

1959

Wolfgang Klaus

Aus dem Anatomischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. nat. Dr. med. h. c. A. Dabelow)
Ausgeführt unter Anleitung von: Prof. Dr. med. M. Watzka

ÜBER DEN EINFLUSS
EINIGER HISTOLOGISCH-TECHNISCHER FAKTOREN
AUF DAS QUERSCHNITTSBILD DES
MUSCULUS GASTROCNEMIUS DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
WOLFGANG KLAUS

Mainz 1958



Dekan: Prof. Dr. med. H. Lossen
Referent: Prof. Dr. med. M. Watzka

Datum des Diploms 14. Jan. 1959

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	2
I. Muskelstrukturen	2
1. Die Muskelfaserdicke.	2
2. Die Myofibrillen.	4
3. Die Anordnung der Myofibrillen auf dem Muskelfaserquerschnitt.	5
II. Histologische Technik	9
1. Fixation	10
2. Nachbehandlung	16
3. Fixationszeitpunkt.	20
C. Fragestellung	23
D. Material und Methode	24
E. Ergebnisse	26
I. Veränderungen der Muskelfaserquerschnittsgröße.	26
1. Der Einfluß des Fixierungszeitpunktes	27
2. Der Einfluß des Fixierungsmittels	28
3. Der Einfluß des Einbettungsmittels	29
4. Die kombinierte Wirkung der drei Faktoren.	30
II. Veränderungen der Muskelfaserfeinstruktur	32
III. Das Verhalten der Fibrillendichte	36
F. Zusammenfassende Betrachtung	38
Literaturverzeichnis	44
Anhang	55



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0082

A. EINLEITUNG

Seit der ersten Beschreibung der quergestreiften Skelettmuskelfasern im 17. Jahrhundert durch LEEUWENHOEK und HOOKE ist die Frage nach ihrer genaueren Struktur immer wieder Gegenstand zahlloser Untersuchungen und heftiger Auseinandersetzungen gewesen, die z. T. auch heute noch unvermindert andauern. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß die Befunde äußerst vielfältig und oft schwer zu deuten sind. Während man früher die Unterschiede und Widersprüche der beobachteten Strukturbilder im allgemeinen in den verschiedenartigsten funktionellen Zustandsänderungen der Muskelfasern begründet sah und hieran zahlreiche Theorien über die Muskeltätigkeit anschloß, zieht man neuerdings bei solch strittigen Fragen immer mehr auch die Möglichkeit artefizieller Beeinflussungen des Materials in Betracht. Allerdings ist die genaue Abgrenzung von funktionellen und artefiziellen Erscheinungen oft nicht mit Sicherheit durchzuführen, da man die Beeinträchtigung des histologischen Muskelfaserbildes durch irgendwelche histotechnischen Maßnahmen oder sonstige Faktoren noch gar nicht in vollem Umfange kennt bzw. nicht immer richtig einzuschätzen vermag.

Diese Fragen sind auch heute z. T. noch ungelöst, weil hierüber keine systematischen Untersuchungen vorliegen und die Ergebnisse der Einzeluntersuchungen infolge der verfeinerten Technik auf so mannigfache Art und Weise gewonnen wurden, daß sie vielfach nicht vergleichbar sind und sich deswegen schlecht zu einem Gesamtbild zusammenfügen lassen. So hat sich beispielsweise gezeigt, daß die Erfahrungen, die bei den zahlreichen Untersuchungen an Kaltblütermuskeln gesammelt worden sind, nicht ohne weiteres auf Warmblütermuskeln übertragen werden können, daß überhaupt Rückschlüsse von tierischem Material auf menschliches Untersuchungsgut meist nur mit großen Vorbehalten vorzunehmen sind, ja daß nicht einmal die Muskeln eines einzigen Individuums in allen Beziehungen untereinander gleichwertig sind. Man denke nur an die Unterscheidung von roten und weißen, hellen und trüben, sarkoplasmareichen und -armen, fibrillen- und felderstrukturierten Fasern u. a. m., wie sie von vielen Autoren je nach Untersuchungsmodus in wechselnder Weise für die einzelnen Muskeln beschrieben worden ist.

Die Frage nach der Abhängigkeit der feineren Muskelfaserstruktur von den besonderen Umständen, unter denen das Ergebnis gewonnen wurde, besteht also zu Recht und ist vor allem beim Vergleich sich widersprechender oder voneinander abweichender Beobachtungen immer wieder zu berücksichtigen. Bevor

auf die hierüber vorliegenden Mitteilungen näher eingegangen werden kann, ist es nötig, an Hand der Literatur zunächst einige jener Morphen der quergestreiften Muskelfasern kurz darzustellen, die häufig im Zusammenhang mit funktionellen Überlegungen erwähnt werden und die andererseits aber auch Beziehungen zu dem Problem der artefiziellen Beeinflussung aufweisen.

B. LITERATUR

I. Muskelstrukturen

1. Die Muskelfaserdicke

Das wohl einfachste histologische Strukturmerkmal eines Muskels, das in Beziehung zur Funktion gesetzt werden kann, ist die Dicke seiner Muskelfasern. Sie ist allerdings nur ein relativ grobes Maß für ein bestimmtes physiologisches Verhalten, da ein solch differenzierter Vorgang wie die Muskeltätigkeit nicht durch eine einfache Ermittlung von irgendwelchen Dickenmaßen zu erfassen ist, sondern vielmehr von den Besonderheiten der kontraktilen Substanz und deren Relationen zum Sarkoplasma abhängig ist. Trotzdem kann eine Betrachtung der Faserdicken auf gewisse Eigentümlichkeiten der Muskeln hinweisen und mit zu deren Charakterisierung beitragen. Beim Vergleich diesbezüglicher Literaturstellen ergeben sich jedoch einige Schwierigkeiten, da die Dickenbestimmung im allgemeinen mittels zweier verschiedener Methoden vorgenommen wird, deren Ergebnisse nur unter großen Vorbehalten miteinander in Beziehung gesetzt werden können: Am häufigsten werden als Dickenmaß die Faserdurchmesser angegeben, da sie sehr leicht und rasch zu bestimmen sind. Allerdings erscheint deren Beweiskraft und Vergleichbarkeit heute sehr fragwürdig, da man erkannt hat, daß die Form der Muskelfaserquerschnitte meist nicht rund, sondern oval oder durch gegenseitigen Druck abgeplattet ist (HÖNCKE 1947, STÖHR 1951), und daß somit die Querschnittsgröße durch ein lineares Maß nicht mit genügender Genauigkeit gekennzeichnet werden kann. Zutreffender sind deshalb die Angaben von Flächenwerten, wie dies SCHIEFFERDECKER (1909) erstmals vorgeschlagen und in großem Umfange ausgeführt hat. Er fand bei diesen sehr sorgfältigen Untersuchungen beträchtliche Unterschiede zwischen den Faserdicken verschiedener Muskeln, was er auf verschiedene funktionelle Beanspruchung zurückführte, da die dünnen Fasern bei den Muskeln überwogen, die fein abgestufte Bewegungen auszuführen hatten, während die dickeren mehr das Bild jener Muskeln bestimmen, die die groben Bewegungs- und Halteleistungen zu vollbringen hatten. Im selben Sinne deutete VOSS (1935) seine etwa gleichar-

tigen Ergebnisse. Solche Unterschiede in der Faserdicke verschiedener Muskeln waren auch schon von MAYEDA (1890) beobachtet worden, der diese Erscheinungen dagegen aber auf die Möglichkeit einer unterschiedlichen Kraftentfaltung der einzelnen Muskeln zurückführte, die bei Muskeln mit dünneren Fasern wegen der besseren Ausfüllung des Gesamtquerschnittes höher sei als bei dickfaserigen mit entsprechend größeren Bindegewebszwischenräumen. In neuerer Zeit wurden auch innerhalb einzelner Muskeln wesentliche Dickenunterschiede beschrieben (z. B. SCHIMERT 1934), wobei vor allem WOHLFART (1935, 1937) im Aufbau der quergestreiften Muskeln zwei deutlich voneinander getrennte Fasergrößenklassen (a- und b-Fasern) unterscheidet, deren Bedeutung jedoch nicht sicher geklärt werden konnte. VOSS (1934, 1935, 1957) und HOPF (1934) stellten genauere Untersuchungen über das Verhalten der Faserquerschnittsgröße in verschiedenen Anteilen desselben Muskels an (Trapezius, Augenmuskeln, Masseter) und fanden dabei signifikante Differenzen, die sich aber nur z. T. auf eine verschiedenartige funktionelle Beanspruchung der einzelnen Partien zurückführen ließen. Ebenfalls mit funktionellen Verschiedenheiten verknüpft sind die von WATZKA (1939) nachgewiesenen Faserdickenunterschiede in einander entsprechenden Muskeln bei wildlebenden und zahmen Tierarten, da sich bei den funktionell minderwertigeren Muskeln der Haustiere durchschnittlich kleinere Faserquerschnitte fanden. Auch bei "roten" und "weißen" Muskeln wurden Differenzen in der mittleren Faserquerschnittsgröße aufgezeigt (CAMERON 1929, GRAF 1944/45).

So deutlich die Unterschiede der Faserdicken und etwaige Zusammenhänge mit dem funktionellen Verhalten in den betreffenden Untersuchungen der einzelnen Autoren auch sind, so ergeben sich doch oftmals Schwierigkeiten beim Vergleich dieser Mitteilungen mit den Ergebnissen anderer Untersucher und beim Versuch einer Koordination der Einzeltatsachen zu einem Gesamtbild. So konnten beispielsweise die geschlechtsbedingten Unterschiede in der Faserdicke, die von SCHWALBE und MAYEDA (1890) mitgeteilt wurden, von SCHIEFFERDECKER (1909) ebensowenig bestätigt werden, wie die von DANZINGER (1937) erwähnten größeren Faserquerschnitte der Fasern mit Säulchenfelderung bei der Nachuntersuchung durch GRAF (1944/45) gefunden werden konnten. Noch beträchtlicher sind die Abweichungen in den Ergebnissen, die über die absoluten Faserquerschnittsgrößen vorliegen, wie die Durchmesserangaben einiger Autoren erkennen lassen: So betragen die Muskelfaserdickenbereiche für menschliches Material bei BOWMAN (1840) 40 - 130 μm , bei KÖLLIKER (1850) 10 bis 80 μm , bei FREY-WYSSLING (1948) 10 - 100 μm und bei HAM (1950) 10 - 40 μm .

Diese Unstimmigkeiten über die Dicke der quergestreiften Muskelfasern lassen sich z. T. wohl auf die verschiedenartige individuelle Ausprägung der Muskulatur zurückführen (worüber aber noch keine Untersuchungen vorliegen), z. T. überschreiten die Abweichungen jedoch den Rahmen eines solchen Variationsbereiches bei weitem. Der Grund hierfür wird im allgemeinen in einer gewissen Abhängigkeit der Faserdicke von äußeren Faktoren gesehen, wobei eine Beeinflussung durch die besonderen Umstände der Materialbehandlung eine große Rolle spielen dürfte (s. unten).

2. Die Myofibrillen.

Als weitere wesentliche Strukturelemente der quergestreiften Muskelfasern sind die Myofibrillen zu betrachten. Sie wurden schon relativ frühzeitig als Längsstreifen in den Fasern beobachtet und als "Primitivfasern" oder "Elementarfibrillen" bezeichnet (SCHWANN 1839, BOWMAN 1840) und kurz danach als Substrat der Kontraktilität erkannt (KÖLLIKER 1850). Sehr bald brachte man sie auch in Zusammenhang mit der auf Faserquerschnitten imponierenden feinen Punktierung (KNOLL 1889, SCHAFFER 1893, SCHIEFFERDECKER 1903, HEIDENHAIN 1911) und versuchte, durch deren genauere Differenzierung weitere Vorstellungen über die Muskelmorphologie und -funktion zu gewinnen. Allerdings mußte man bald feststellen, daß zahlreiche Angaben über Einzelheiten dieser Gebilde oft nicht miteinander in Einklang zu bringen waren, wobei vor allem die Differenzen bezüglich der Fibrillendicke immer wieder auffielen:

KÖLLIKER (1888) fand an fixiertem Material eine durchschnittliche Dicke der Myofibrillen von Bruchteilen eines Mikron, SCHIEFFERDECKER (1903) 0,4 bis 0,53 μm , HEIDENHAIN (1911) nie mehr als 0,5 μm , meistens um 0,2 μm . Ebenso beschreibt MARTIN (1882) feinste Fibrillen von 0,2 μm , an der Grenze des Auflösungsvermögens. Andere Autoren dagegen haben größere Werte gefunden, z. B. KÖHLER (1938) 0,3 - 1,3 μm . Ähnlich liegen die neuerdings elektronenmikroskopisch ermittelten Durchmessergrößen: So geben HALL, JAKUS und SCHMITT (1946) an, daß die meisten Myofibrillen aus Froschmuskeln 0,5 bis 1,0 μm messen, einzelne können jedoch 3,0 μm dick oder 0,2 μm dünn sein. Nach DRAPER und HODGE (1949) messen die Myofibrillen ebenfalls 0,2 bis 3,0 μm . FREY-WISSLING (1948) gibt zirka 1 μm als Durchmesser an. Auch in den Mikrophotographien von PEASE und BAKER (1949) werden etwa 1 μm dicke Gebilde als Myofibrillen bezeichnet. Bei ROSZA, SZENT-GYÖRGYI und WYCKOFF (1950) findet man Fibrillen von 1,83 μm und über 2 μm abgebildet.

Diese verwirrende Fülle von Aussagen wurde von einigen Autoren auf mehr oder minder große artspezifische Unterschiede in der Fibrillendicke zurückgeführt,

von anderen wiederum als verschiedene funktionelle Zustände der einzelnen Fibrillen erklärt (GUTHERZ 1910, KNOLL und BARKLEY 1941, WILKES 1956), wobei vor allem KNOLL und BARKLEY (1941) die dickeren Fibrillen als Kontraktionsformen der dünneren betrachten, was etwa in Übereinstimmung zu bringen ist mit der Mitteilung von MEYER und MARK (1930), daß sich aus entspannten Muskelfasern durch Behandlung mit flüssiger Luft Einzelfibrillen isolieren lassen, bei kontrahierten Fasern jedoch nur dickere Gebilde, teils "Klumpen", zu erhalten sind. HEIDENHAIN (1911) hingegen machte den Versuch, diese Widersprüche in der Fibrillendicke durch die Theorie eines Schachtelsystems ("Enkapsis") zu klären, was auch neuerdings von verschiedener Seite als wohl zutreffendste Deutungsmöglichkeit der unterschiedlichen Befunde angesehen wird (ENDERLIN 1953, HÄGGQUIST 1956). Sie basiert auf der Annahme, daß die eigentlichen Primitivfibrillen aus Molekülreihen ("submikroskopischen Protomeren") gebildet werden, die sich zu verschiedenen starken Bündeln zusammenschließen können. Erst ab einer gewissen Größenordnung, die vom optischen Auslösungsvermögen des Mikroskops bestimmt wird, kommen sie in den Bereich der Sichtbarkeit und imponieren dann als "Myofibrillen". Diese Vorstellung wird durch neuere elektronenmikroskopische Ergebnisse unterstützt, da HALL, JAKUS und SCHMITT (1946), BENNETT (1949), HOFFMANN-BERLING und KAUSCHE (1950), ROSZA, SZENT-GYÖRGYI und WYCKOFF (1950), HUXLEY (1953), BENNETT und PORTER (1953) sowie WEINSTEIN (1954) feinste Elemente von 40 - 250 Å Dicke, sog. Myofilamente, beschrieben haben, die zu gewissen regelmäßigen Arealen auf dem Faserquerschnitt zusammengeordnet waren. Durch eine verschiedenartige Bündelung solcher Grundelemente könnten somit - ganz im Sinne HEIDENHAINs - Myofibrillen mit ganz unterschiedlichem Kaliber entstehen, wodurch alle oben angeführten Durchmesserwerte von 0,2 - 3,0 μ m erklärt wären. Fraglich bleiben dabei nur die Ursachen, die zu einer solch unterschiedlichen Ballung im Einzelfalle führen und damit für die Entstehung der differenten Fibrillendicke verantwortlich zu machen sind. Hierbei wäre neben etwaigen funktionellen Momenten ebenfalls wieder an gewisse Einwirkungen bei der histologisch-technischen Aufbereitung zu denken.

3. Die Anordnung der Myofibrillen auf dem Muskelfaserquerschnitt

Ein weiteres morphologisches Merkmal, dem auch in funktioneller Hinsicht eine Rolle beigemessen wird, ist die verschiedenartige Anordnung der kontraktile Substanz auf dem Faserquerschnitt. Dieses Problem stand im Mittelpunkt zahlreicher Untersuchungen (KÖLLIKER 1866, KNOLL 1889, ROLLETT 1889, SCHAFFER 1893, BARER 1948, STÖHR 1951, BARGMANN 1956, HÄGGQUIST 1956), die aber ebenfalls nicht in allen Beziehungen zu einer befriedigenden

Klärung geführt haben. SCHAFFER (1893) beschrieb diese Strukturierungen erstmals in etwa der Form, die auch heute noch im allgemeinen die Grundlage diesbezüglicher Betrachtungen bildet:

"Die fibrilläre Substanz erscheint entweder in Form feinster, gleichmäßig verteilter Fibrillen in der Faser angeordnet, welcher Anordnung eine ebenso gleichmäßige des Sarkoplasmas entspricht; der Querschnitt solcher Fasern zeigt eine dichte feine Punktierung (Fibrillenfelderung) ..., oder es sind in der Faser mehrere Fibrillen zu Einheiten höherer Ordnung verbunden (Muskelsäulchen KÖLLIKERS), zwischen welchen sich Durchgänge von reichlicherem Sarkoplasma finden. So entsteht am Querschnitt eine gröbere Felderung (Säulchenfelderung), deren einzelne Felder wieder in Fibrillen zerfallen."

Allerdings weist SCHAFFER (1893) gleichzeitig darauf hin, daß oft Übergänge zwischen beiden Arten der Fibrillenanordnung vorhanden sind, so daß man danach nicht zwei verschiedene Faserarten unterscheiden kann. Für das Zustandekommen dieser Unterschiede im Strukturbild läßt er vielmehr die Möglichkeit einer Beeinflussung durch das Fixierungsmittel oder andere Faktoren offen. Im gleichen Sinne äußerte sich auch HEIDENHAIN (1911).

Bereits früher (COHNHEIM 1865) wurden auf dem Muskelfaserquerschnitt als Struktureigentümlichkeit gewisse Felderungen beschrieben und nach ihrem Entdecker "COHNHEIMSche Felder" genannt (KÖLLIKER 1866). Diese werden in vielen Veröffentlichungen älteren und neueren Datums der Säulchenfelderung SCHAFFERS gleichgesetzt und als Querschnittsbild der KÖLLIKERSchen Muskelsäulchen betrachtet (KNOLL 1889, ROLLETT 1889, SCHAFFER 1893, STÖHR 1940, BARER 1948, BARGMANN 1956, HÄGGQUIST 1956). Jedoch legen nach Ansicht verschiedener Autoren bereits COHNHEIMs erste Beschreibungen von "mosaikartigen Polygonen aus matter Substanz, die von geraden, sich unter verschiedenen Winkeln schneidenden Linien eingeschlossen werden", zusammen mit den beigegeführten Abbildungen den Verdacht artefizieller Bildungen nahe, was auf Grund neuerer Untersuchungen wohl zu bestätigen ist, da sich diese Erscheinungen durch eine vorsichtige Behandlung des Gewebes ohne weiteres vermeiden lassen (STÖHR 1951, KRÜGER 1952, FRICK 1954). CAREY (1936) dagegen deutet die Fibrillenanordnung in Form COHNHEIMScher Felder in funktioneller Weise, da sich bei Kontraktionen die der Querstreifung zugrunde liegenden hellen und dunklen Elemente gruppenweise gegeneinander verschieben sollen, so daß sie beim Schnitt in verschiedener Höhe getroffen werden könnten. Auch KNOLL und BARKLEY (1941) sehen in der COHNHEIMSchen Felderung eine funktionelle Erscheinung, indem sich nämlich bei der Muskelkon-

traktion die Fibrillen in verschiedenem Ausmaß zusammenballen sollen, was in einem gewissen Stadium zu dem Bild solcher Felder führe.

In neuerer Zeit haben KRÜGER und seine Schule auf Grund ihrer histologischen und muskelphysiologischen Befunde (z. B. FÜRLINGER 1930, KRÜGER, DUSPIVA und FÜRLINGER 1933, HAMACHER 1934, DANZINGER 1937, KÖHLER 1938, KRÜGER 1950-57, GÜNTHER 1950-55) den Versuch unternommen, die Muskelfasern je nach ihrer Fibrillenordnung auf dem Querschnitt besonders zu klassifizieren und ihnen verschiedene physiologische Wertigkeiten zuzuschreiben. Sie unterscheiden in der Skelettmuskulatur sämtlicher Wirbeltiere zwei morphologisch und funktionell grundsätzlich verschiedene Faserarten, solche die eine "Fibrillenstruktur" aufweisen und tetanisch reagieren sollen, und andere mit einer "Felderstruktur", die sie als Substrat der tonischen Funktion bezeichnen.

Das Querschnittsbild der ersteren ist durch eine "gleichmäßige Verteilung der Fibrillen - die hier als Punkte in Erscheinung treten - gekennzeichnet, das der anderen durch eine unregelmäßige Felderung in Form abgerundeter Polygone oder ineinander gefalteter Bänder, in denen an günstigen Objekten gleichfalls punktförmige Fibrillen nachzuweisen sind, charakterisiert" (GÜNTHER 1954). Ein Übergang zwischen beiden Faserarten bestünde in keinem Falle, die Existenz irgendwelcher Zwischenformen wird entschieden abgelehnt (KRÜGER 1952, GÜNTHER 1954). Der morphologische und funktionelle Unterschied sei nicht nur aus einer verschiedenen Fibrillenordnung auf dem Faserquerschnitt, sondern auch aus einer unterschiedlichen, für jede Faserart spezifischen Innervation zu ersehen, indem nämlich die Fasern mit Fibrillenstruktur von dickmarkhaltigen Nervenfasern mit Endplatten ("terminaisons en plaque") und die Fasern mit Felderstruktur von feinmarkhaltigen Nervenfasern mit Endtrauben ("terminaisons en grappe") versorgt werden (KRÜGER, GÜNTHER).

Einer solchen dualistischen Auffassung über den Bau der quergestreiften Muskelfasern wurde von vielen Seiten heftig widersprochen, wobei nicht allein die Zuordnung verschiedener physiologischer Wertigkeiten an Fasern mit unterschiedlicher Fibrillengruppierung abgelehnt wird (SCHAEFER 1957), sondern auch die grundsätzliche Unterteilung in zwei morphologisch völlig verschiedene Muskelfasern angezweifelt wird.

Sogar in einigen älteren Arbeiten aus KRÜGERS Mitarbeiterkreis lassen sich in dieser Beziehung widersprüchliche Ergebnisse finden: DANZINGER (1937) beschreibt zwar beide oben angeführten Faserarten, außerdem jedoch in einer Faser auch Übergänge dieser beiden Strukturen. Ebenso teilt KÖHLER (1938)

mit, daß innerhalb einer jeden Faser mit Säulchenfelderung von Übergängen gesprochen werden könne und keine feste Grenze zwischen beiden Fasertypen bestehe. Auch THIEL (1939) und NEL (1940) beschreiben Muskelfasern mit gemischter Struktur.

1941 erschien eine Arbeit von KNOLL und BARKLEY, die in diametralem Gegensatz zu KRÜGERS Ansichten steht, da die Autoren in allen untersuchten Muskeln außer Fasern mit Fibrillen- und Säulchenfelderung auch in ein und demselben Faserquerschnitt die verschiedensten Gruppierungen der kontraktilen Substanz beobachteten. Sie deuten diese wechselnde Gliederung in Fibrillen, Säulchen und COHNHEIMSche Felder als eine Folge sich steigernder Kontraktionszustände.

Auch BRECHT und FENNEIS (1950) können an Hand ihrer Untersuchungen keine scharf voneinander getrennten Muskelfaserarten unterscheiden, sondern finden außer Fibrillen- und Felderstruktur auch noch alle möglichen Übergangsformen, wobei sich bei keiner einzigen dieser Strukturen ein direkter Zusammenhang mit der physiologischen Reaktion ergab.

Ebenso kam FRICK (1954) zu dem Schluß, daß zwischen den Fasern mit gleichmäßiger Fibrillenverteilung und denen mit Felderbildungen "ein so kontinuierlicher Übergang mit allen Zwischenstufen und Kombinationen besteht, daß es unmöglich ist, irgendwo eine Grenze zu setzen und zu sagen, die einen zeigen Fibrillenstruktur und die anderen weisen Felderstruktur auf". Er hält es deshalb nicht für ausgeschlossen, daß nur ein einziger Fasertyp existiert, der unter dem Einfluß verschiedener Faktoren, wie etwa Fixation und Kontraktion, bis zu einem gewissen Grade modifiziert werden kann.

Auch HÄGGQUIST (1956) kann sich nicht entschließen, der KRÜGERSchen These eines dualistischen Muskelaufbaues zuzustimmen, zumal er selbst in seinen Präparaten die geforderte spezifische nervale Versorgung nicht bestätigen konnte.

Neuerdings untersuchte WILKES (1956) phasenkontrastmikroskopisch die Strukturbilder vor und nach der Fixation (s.unten) und kam dabei zu dem Schluß, daß die Verteilung der kontraktilen Substanz auf dem Faserquerschnitt weitgehend von physikochemischen Faktoren, eventuell auch vom Funktionszustand der Muskulatur, abhängig ist. Danach lassen sich zwischen der histologischen Struktur und dem physiologischen Verhalten keinerlei Beziehungen herstellen.

Zu demselben Ergebnis kamen KUSCHINSKY und Mitarbeiter (1956/57) beim Vergleich von Struktur und Funktion verschiedener Muskeln, wobei sich die morphologischen Unterschiede ebenfalls physiologisch nicht entsprechend auswirkten.

II. Histologische Technik

Nach diesen Darlegungen ist es nun naheliegend, die differenten Aussagen über die Morphologie der quergestreiften Muskelfaser dahingehend zu untersuchen, ob nicht irgendwelche Beeinflussungen von Seiten der histotechnischen Verarbeitung des Materials zu diesen voneinander abweichenden Bildern geführt haben, zumal solche Behauptungen ja wiederholt in der Diskussion um die Muskelstrukturen aufgestellt wurden (z. B. LANGER 1936) und besonders im Brennpunkt der Debatte um die KRÜGERsche These vom dualistischen Muskelaufbau stehen.

Mit dieser Fragestellung wird zugleich die gesamte Problematik der Fixation und der übrigen mikrotechnischen Methoden berührt, die ja darin besteht, daß ein labiles, lebendes kolloidales System durch die grobe Einwirkung physikochemischer Mittel in einen stabilen, "fixen" Zustand überführt werden muß, der sich durch möglichst große Naturtreue mit dem Ausgangsobjekt auszeichnen soll. Die Schwierigkeiten einer solchen Forderung werden am besten in den Ausführungen K. ZEIGERS (1938) über die physikochemischen Grundlagen der histologischen Methodik ersichtlich: "Die Formbestandteile aus reversiblen Gelen, aus Solen und ihren zahlreichen Zwischenstufen werden ohne Schrumpfung oder Quellung, ohne Verflüssigungs-, Entmischungs- und Koagulationsvorgänge oder Inlösungen einzelner Phasen, mit einem Wort ohne weitgehende Veränderungen ihres kolloidalen Zustandes, ihres chemischen Bestandes und ihrer optisch-mikroskopischen Erscheinung niemals stabilisiert werden können." Das Ausmaß dieser Veränderungen im submikroskopischen Bereich ist maßgebend für die Brauchbarkeit einer bestimmten histologischen Arbeitsmethode, da sich auf ihnen das mikroskopisch sichtbare Bild aufbaut.

Darüber hinaus ist zu beachten, daß bei der Fixation sehr viele Strukturen erst entstehen, die sich am lebenden Objekt nicht nachweisen lassen. Dabei kann es sich nach ZEIGER (1938) um maskierte Strukturen handeln, also der Form und Größe nach im Leben vorgebildete Elemente, die aber erst im Fixationsbild sichtbar werden, oder aber um latente Strukturen, die durch eine spezifische Ultrastruktur zwar vorausbestimmt, aber noch nicht endgültig vorgebildet sind, oder letztlich um Mikrostrukturen, die als völlige Nova im Gefolge der Fixation auftreten, die zwar auch in ihrer Ausprägung von der Ultrastruktur in gewissem Sinne abhängig sind, jedoch nur in einem solch weiten Rahmen, daß die unterschiedliche Fällungswirkung bestimmter Fixationsmittel am gleichen Ort verschiedenartige Strukturen erzeugen kann, die man allgemein als Fixationsartefakte bezeichnet.

Beim Vorliegen eines histologischen Präparates gilt es nun, diese sichtbar gewordenen maskierten und latenten Strukturen von den artefiziellen Produkten zu unterscheiden, denn erstere stehen zumindest als Äquivalentbilder für bestimmte histologische Bauelemente und haben eine konstante (wenn auch oft unklare) Beziehung zum lebenden Zustand, während letztere als Kunstprodukt nur zu Fehldeutungen Anlaß geben können.

Inwieweit eine solche Beeinflussung der Strukturen die Ursache für die oben zitierten widersprechenden Auffassungen über den Feinbau der quergestreiften Muskelfasern sein kann, ist aus den einzelnen Veröffentlichungen nicht zu ersehen, da sie weitgehend eine hinreichend genaue Angabe der Materialverarbeitung vermissen lassen. Andererseits ist auch beim Vorliegen der angewandten histologischen Technik eine derartige Beurteilung nur bedingt möglich, da - wie bereits erwähnt - nur wenige Untersuchungen über Fixationseinflüsse auf die Muskelfasern vorliegen und noch keine allgemeingültigen Vorstellungen über diese Einwirkungen bestehen.

Es sei deshalb zunächst einmal an Hand einiger Literaturstellen aufgezeigt, wie sich die Anwendung von Fixationsmitteln und sonstiger bei der histologischen Verarbeitung verwendeten Reagentien auf das histologische Material auswirkt und welche Ergebnisse speziell über die Beeinflussung der Muskelstrukturen vorliegen.

1. Fixation

Die Fixation ist der erste und zugleich wichtigste Vorgang von allen histologisch-technischen Maßnahmen, da sie das noch lebende Gewebe abzutöten und dessen vitalen Zustand möglichst wenig verändert festzuhalten hat. Man verwendet hierzu zahllose Substanzen und Mischungen verschiedenster chemischer Zusammensetzung, von denen rein empirisch eine gute Darstellung der histologischen Elemente erwartet wird, die aber - nach ZEIGER (1935) - oftmals einen leicht kabbalistischen Eindruck zu erwecken vermögen.

Während man ursprünglich die wichtigste Komponente der Fixationsmittel in ihrer Fällungskraft sah und diese in ihrer unterschiedlichen Ausprägung in zahlreichen Modellversuchen an Eiweißlösungen prüfte (FISCHER 1894, 1899, APATHY 1896, TELLYESNICZKY 1898, HARDY 1899, MANN 1902, BERG 1903, 1905, LUNDEGARDH 1912), wandte man sich später mehr der Untersuchung allgemeinerer Faktoren zu, wie Konzentration, Temperatur, Diffusionsvermögen, pH-Wert, Titrationsazidität, hygroskopischem Verhalten u.v.a.m. (RUBENTHALER 1907, TELLYESNICZKY 1926, WERNER 1932, 1933/34, 1936/37, 1952/53,

ZEIGER 1938, AMBROSIUS 1954, WILKES 1956), die meist nicht mehr am Modell, sondern an isolierten Zellen oder Geweben vorgenommen wurde, da man erkannt hatte (BERG 1905), daß Lösungen von Eiweißstoffen weder physikalisch noch chemisch dem Zustand des Protoplasmas entsprechen, und damit das Ausfällen derselben mit Fixationslösungen kein der histologischen Fixation vergleichbarer Vorgang sein kann, zumal bei den normalerweise vorliegenden komplizierten Objekten, wie Zellverbänden oder Organen, neue durch die Fixation beeinflussbare Eigentümlichkeiten auftreten können (WERNER 1952/53).

Gleichzeitig mit diesem Wandel in der Untersuchungstechnik kam man auch zu einer anderen Beurteilungsweise für die Qualität eines Fixationsergebnisses: Früher sah man als Kriterium einer guten Fixation die Ausprägung "schöner Kernbilder" an, da sich hierin die ausgezeichnete Fällungskraft des Mittels dokumentierte. Nun erkannte man jedoch, daß diese allein nicht die Güte eines histologischen Bildes bestimmen, zumal ihre Bewertung sehr von der subjektiven Betrachtungsweise abhängig ist. Vielmehr fanden sich in den unterschiedlichen Veränderungen des Volumens bei der Fixation, den Schrumpfungen oder Quellungen, und in den Umgestaltungen in der Feinstruktur entweder des gesamten Gewebeblocks oder der einzelnen Zellen oder Kerne weitaus charakteristischere und vergleichbarere Daten.

Bereits 1893 beobachteten KAISERLING und GERMER, ebenso wie später HAMBURGER (1904), an einzelnen Zellen Volumenveränderungen in Abhängigkeit von der Fixation, die teils mit groben Form- und Strukturbeeinträchtigungen verbunden waren. Ähnliche Ergebnisse teilen STRANGWAYS und CANTI (1927), HERTWIG (1931), WERNER (1932), LEPLAT (1934) mit, wobei WERNER bei der Einwirkung verschiedener Fixationsgemische auf isolierte Cupulae von Fischen besonders eindrucksvolle Volumenveränderungen erzielte, so z.B. Schrumpfungen bis auf den 20. Teil und Quellungen bis zu $1 \frac{3}{4}$ des Ausgangsvolumens.

STOELTZNER (1906) stellte bei der Verwendung verschiedener Fixationsmittel mit unterschiedlicher Konzentration außer gewissen Volumenveränderungen des Materials fest, daß nicht alle Organe durch dasselbe Mittel in gleicher Stärke, ja z. T. auch nicht im gleichen Sinne verändert wurden. Diese Abhängigkeit des Fixationsergebnisses von der Natur des betreffenden Gewebeelements betont auch SCHAFFER (1918) mit dem Hinweis, daß dasselbe Fixierungsmittel bei Geweben verschiedener Herkunft sehr verschieden wirken kann, wie dies bereits FLEMMING (1882, 1893/94) für die Zelle eingehend dargelegt hat. Außerdem weist SCHAFFER darauf hin, daß das gleiche Objekt nach Behand-

lung mit derselben Fixierungsflüssigkeit verschieden aussehen kann, was mit Recht auf die von FLEMMING erwähnten verschiedenen physikalischen und chemischen Zustände des Gewebes zurückzuführen sein dürfte.

In neuerer Zeit fanden diese Befunde über fixationsbedingte Erscheinungen folgende Formulierung bei ROMEIS (1948): "Der Vorgang der Fixierung ist gewöhnlich auch mit einer Volumenveränderung verknüpft, die sich in den einzelnen Bauelementen, wie auch an der Gesamtgröße und Gestalt des Präparates bemerkbar macht. Zumeist kommt es zu einer Schrumpfung, in anderen Fällen zu einer Quellung. Das Ausmaß der Veränderungen ist je nach Organ, dessen physiko-chemischem Zustand und je nach Fixierungsflüssigkeit verschieden groß."

Auch von BERG (1903, 1907, 1908) liegen hierzu noch bedeutungsvolle Mitteilungen vor, die er einestails an Modellversuchen, andernteils an Hand der Änderungen des Gewichtes und des Gesamtvolumens von Milz- und Leberstückchen bei verschiedenartiger Fixierung und anschließender histologischer Untersuchung machte. Er fand dabei ebenfalls Unterschiede je nach der Art des Ausgangsmaterials, kam darüber hinaus aber noch durch histologischen Vergleich zu dem Schluß, daß die strukturegebende Substanz sich ebenfalls und zwar unabhängig vom Gesamtvolumen verändert hat, daß also innere Verschiebungen stattgefunden haben, die mit einer einfachen Bestimmung des Volumens nicht erfaßt werden können, so daß hiermit allein also der Einfluß eines Fixierungsmittels nicht genügend charakterisiert werden kann. Ebenso erwähnt SCHILLER (1930), daß es "möglich, ja wahrscheinlich ist, daß durch Schrumpfung oder Quellung des Gewebes als Ganzes auch die feinere Struktur der Zellteile verwischt oder verschoben wird". Auch WERNER (1952/53) weist eindringlich darauf hin, daß die Struktur- und Volumenveränderungen bei der Fixation nicht proportional verlaufen.

Es ergibt sich daraus, daß die Fixierung keineswegs eine für alle Phasen und Strukturen eines lebenden Systems gleichmäßige und gleichsinnige Veränderung bewirkt, sondern daß jede Phase für sich, unabhängig von der anderen, spezifisch beeinflusst werden kann (RIES und GERSCH 1936).

In diesem Zusammenhang verdienen auch die zahlreichen Untersuchungen über die Wirkungsweise des Formols auf histologische Objekte besondere Beachtung. Formol ist nämlich das wohl gebräuchlichste und weitest verbreitete Fixationsmittel überhaupt, deshalb auch am besten und unter den verschiedensten Bedingungen geprüft worden, so daß die hierüber vorliegenden Ergebnisse auch über das Fixationsproblem im allgemeinen einigen Aufschluß zu geben vermögen.

Trotz der Fülle der Veröffentlichungen bestehen auch heute noch geteilte An-

sichten über die Güte der durch Formolfixierung erzielten Resultate: BLUM (1893, 1894, 1896) hat eine 10-fach verdünnte Formaldehydlösung erstmals in die histologische Fixationstechnik eingeführt und diese als ein besonders rasch und gut wirkendes Mittel empfohlen, da sie keine nennenswerten Schrumpfungen hervorrufe und mikroskopisch ausgezeichnete Bilder liefere. 1896 beschreibt er allerdings gewisse Quellungserscheinungen in der Randzone zarter Organe. Bestätigt wurden die guten Fixationsergebnisse u. a. von SJÖBRING (1900), DUFRENOY und REED (1935), LASSEK und POWERS (1949), die nicht nur makroskopisch, sondern auch mikroskopisch gute Resultate beschreiben. Demgegenüber kommt aber in der überwiegenden Mehrheit der diesbezüglichen Veröffentlichungen zum Ausdruck, daß stets gewisse Volumenveränderungen der Objekte, meist i. S. von Quellungen, und auch grobe Strukturverschiebungen mit der Formolfixation verbunden sind (z. B. HAMBURGER 1904, STOELTZNER 1906, BERG 1907, SARKISSOW 1930, HERTWIG 1931, GROSS und LOHAUS 1932, SCHROEDER 1933, HASELMANN 1951, AMBROSIUS 1954). Nur TARKHAN (1931) und ZIRKLE (1934) wollen leichte Schrumpfungen beobachtet haben.

Das Ausmaß der Veränderungen wird je nach der Konzentration des Formols und der Gewebsbeschaffenheit verschieden angegeben: Während PATTEN und PHILPOTT (1921) an Schweineembryonen mit 10%-igem Formol Längenzunahmen bis zu 5% erzielten, BERG (1907) bei gleicher Konzentration an Milz- und Leberstückchen ebenfalls Quellungen unter 10% feststellte, beobachteten LAGERLÖF und TORGERSRUUD (1934) bei Fixation von Gehirnen mit 4%-igem Formol Quellungen über 10% (max. 14%). Ähnliche Angaben machte bereits auch FLATAU (1897). STOELTZNER (1906) beschreibt sogar Volumenzunahmen bis zu 17% maximal, mit gewissen Unterschieden je nach der verwendeten Konzentration und dem zugrunde liegenden Organ. HASELMANN (1951) fand bei phasenkontrastmikroskopischer Untersuchung der Einwirkung von 4%-igem Formol auf Fibroblastenkulturen ebenfalls solch starke Quellungen (20%), darüber hinaus aber auch Zerstörungen der Feinstruktur durch starke Vakuolisierungen.

Neuere Untersuchungen über die Wirkung verschieden starker Formolkonzentrationen unternahm AMBROSIUS (1954), der dabei aber stets ein nahezu gleichbleibendes Zellvolumen erhält (im Gegensatz zu der Forderung FLATAUs, daß bei abnehmender Konzentration die Quellungen zunehmen müssen). Allerdings beschreibt er das Auftreten von erheblichen Lückenbildungen und Zerreißen innerhalb des Gewebes, was in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von BOLLER-LEE (1896), HOYER (1896), TELLYESNICZKY (1898, 1926), THULIN (1914), PATTEN und PHILPOTT (1921), SCHAEDE (1928) u. v. a. steht.

THULIN (1914) weist noch besonders darauf hin, daß in Präparaten mit quergestreifter Muskulatur durch Formol reichlicher Artefakte hervorgerufen würden als durch andere Fixantien.

Versuche, durch Zusätze von Salzen u. ä. eine isotonische Formollösung zu schaffen, um die beträchtlichen Volumenveränderungen zu vermeiden, wie es SJÖBRING (1900), STOELTZNER (1906), CARLETON (1922, 1926), POLICARD (1926), SCHROEDER (1933), LAGERLÖF und TORGERSRUUD (1934) und einige andere Autoren vorschlugen, konnten nicht überzeugen, da die hierdurch bedingten sekundären Schädigungen (s. unten) in keinem tragbaren Verhältnis zu den Vorzügen einer primär verhinderten Quellung stehen.

Trotz dieser nachteiligen Aussagen über die Fixationsgüte des Formols wird es weiterhin in hohem Maße in der histologischen Technik verwendet und von maßgebenden Handbüchern als gut fixierendes, Form, Farbe und Struktur des Präparates gut bewahrendes Mittel empfohlen (McCLUNG 1939, ROMEIS 1948).

Allerdings neigt man mehr dazu, nicht mehr mit dem reinen Formol (in verschiedenen Konzentrationen) zu arbeiten, sondern seine Vorteile möglichst in einem Fixationsgemisch auszunutzen, in dem seine nachteiligen Eigenschaften nicht zur Entfaltung kommen können. Dieses Vorgehen beruht auf der verschiedentlich bestätigten Auffassung (TELLYESNICZKY 1926, AMBROSIUS 1954), daß die Gesamtwirkung eines Gemisches keineswegs in einer einfachen Summation der Einzelwirkungen der darin enthaltenen Substanzen zu sehen ist, sondern daß eine gegenseitige chemische und physikalische Beeinflussung stattfindet, die zu einer veränderten Fällungswirkung und Angriffsweise des Fixierers führt. Somit kann man durch eine geschickte Kombination mehrerer Fixantien die Mängel des einen Mittels durch die Vorzüge eines anderen auszugleichen versuchen. Aus dieser Erkenntnis heraus wurde durch Zusatz verschiedener Substanzen zum Formol, wie Essigsäure, Pikrinsäure, Trichloressigsäure, Sublimat u. a. m., mehrere brauchbare und empfehlenswerte Mischfixatoren geschaffen, wie z. B. Susa, Bouin u. a., die in der Fixationsgüte dem reinen Formol überlegen sind, da sie weitaus geringere Volumenveränderungen und auch unbedeutendere Feinstrukturbeeinflussungen bewirken sollen (HEIDENHAIN 1905, 1916, BERG 1907, TELLYESNICZKY 1926, SCHILLER 1930, TARKHAN 1931, HERTWIG 1931, ROMEIS 1948).

Hinsichtlich einer derartigen durch die Fixation bedingten Beeinflussung des histologischen Bildes der quergestreiften Muskulatur liegen verschiedene Beobachtungen vor:

Veränderungen der Querschnittsgröße durch das Fixierungsmittel beschreiben

HOPF (1934), VOSS (1934), GRAF (1944/45) sowie WATZKA (1939), der an verschieden fixierter Muskulatur bei Fasern mit größerem Wassergehalt einen höheren Schrumpfungsgrad konstatierte als bei geringer wasserhaltigen.

Die meisten Autoren beschäftigen sich jedoch mehr mit dem Verhalten der Fibrillenordnung auf dem Querschnitt und den übrigen Veränderungen der Feinstruktur:

KÖLLIKER (1866) erwähnt bereits, daß das Strukturbild der Muskelfaserquerschnitte eine Abhängigkeit von der Behandlung aufweist, insofern nämlich beim unbehandelten Gefrierschnitt die Querschnitte völlig einheitlich eine zarte, gleichmäßige Punktierung besitzen, die sich beim Zusatz von Wasser, verschiedenen Säuren und Fixantien in das Bild der COHNHEIMschen Felderung umwandelt, deren fixationsbedingte Entstehung (durch Schrumpfungen) heute auch großteils angenommen wird (z.B. STÖHR 1951, KRÜGER 1952, FRICK 1954).

Ähnliche Mitteilung über die Wirkung von Fixationsmitteln auf das Querschnittsbild machten auch ROUGET (1887), GUTHERZ (1910) sowie KNOLL (1889, 1891), welcher außerdem noch innerhalb der entstandenen Felder - je nach der schrumpfenden oder quellenden Wirkung des betreffenden Reagens - das Auftreten verschieden dicker fibrillärer Fäserchen beobachtete. Weiterhin beschreibt er bei gewissen Fischen und Insekten in Lamellenform angeordnete fibrilläre Substanz, die sich jedoch bei höheren Graden der Schrumpfung oder Quellung wieder in Einzelfibrillen auflöste. Er zeigte damit als erster, daß Fasern von anscheinend sehr verschiedener Struktur bei einer anderen Fixierungsweise einander ganz analoge Querschnittsbilder liefern können. Auch SCHAFER (1893, 1918) kommt zu dem Ergebnis, daß das Strukturbild der Muskelfasern in mannigfacher Weise durch die Einwirkung von Fixierungsmitteln u.ä. beeinflusst werden kann. Dies sah er vor allem in der Tatsache bestätigt, daß bei Fasern mit Säulchenfelderung die Form der auftretenden Felder eine gewisse Abhängigkeit von der Art des verwendeten Fixierungsmittels erkennen läßt, und daß neben der reinen Säulchen- und Fibrillenfelderung beide Anordnungsmöglichkeiten der fibrillären Substanz innerhalb derselben Faser in wechselndem Ausmaß gemischt auftreten können, wie dies auch später von BOERNER-PATZELT (1929) ebenfalls beschrieben worden ist. Erwähnt sei auch noch eine Beobachtung von W. H. und M. R. LEWIS (1917), die am lebenden Muskel überhaupt keine Fibrillen nachweisen konnten, sondern solche erst nach Zusatz des Fixationsmittels fanden.

Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von WILKES (1956), der die Beeinflussung des Strukturbildes beim Zusatz von Fi-

xierungsmitteln (5%-ige TCE) während des ganzen Fixierungsvorganges phasenkontrastmikroskopisch beobachtete. Er stellte dabei erhebliche Sarkoplasmaverschiebungen, Fibrillenumgruppierungen und -verschmelzungen, die Ausbildung von Reißstraßen, breiten Sarkoplasmazügen, die Entstehung von Fibrillengruppen u. ä. fest und zeigte somit, daß bei den im Nativzustand gleichmäßig durchstrukturierten Muskelfasern während der Fixation größte Änderungen der Feinstruktur in Form von Verschiebungen und Zusammenballungen der Fibrillen auftreten, was eine beträchtliche Verzerrung des ursprünglich vorliegenden mikroskopischen Bildes zur Folge hat.

Insgesamt resultierte aus diesen Beobachtungen die Erkenntnis, daß unter dem Einfluß mancher Fixierungsmittel die ursprünglich auf dem Querschnitt gleichmäßig verteilten Myofibrillen durch Verschiebungen des interfibrillären Sarkoplasmas zu Bündeln zusammentreten können (BARGMANN 1956), und daß somit also beachtliche Umformungen des ursprünglichen Querschnittsbildes verursacht werden.

2. Nachbehandlung (Entwässerung, Einbettung, Färben etc.)

Sehr bedeutungsvoll für die Beurteilung der histologischen Verarbeitung wurde die Erkenntnis, daß nicht allein die Fixation zu Veränderungen der Zell- und Gewebestrukturen führt, sondern daß die anschließende Nachbehandlung bis zum fertigen Präparat noch zahlreiche Möglichkeiten einer weiteren Strukturbeeinflussung in sich birgt.

Hierauf wird zwar schon von TELLYESNICZKY (1898) hingewiesen, genaue Angaben finden sich aber erst bei BERG (1907), der im Anschluß an seine bereits oben erwähnten Fixationsstudien die verschieden fixierten Milz- und Leberstückchen im histologischen Arbeitsgang weiter verfolgte und ihre Volumen- und Gewichtsveränderungen nach jeder wichtigen Stufe (Auswässern, Härten etc.) bestimmte. Dabei fanden sich teils noch ganz erhebliche sekundäre Veränderungen der bereits fixierten Objekte in Form von Quellungen und Schrumpfungen, die einen besonders hohen Grad bei der Alkoholpassage annahmen.

Grundsätzlich fanden diese während der Nachbehandlung - besonders wenn diese mit einer Alkoholeinwirkung verbunden war - auftretenden Volumenveränderungen bei den Nachuntersuchungen zahlreicher anderer Autoren ihre Bestätigung, wie aus den Mitteilungen von v. APATHY (1896), SCHAFFER (1918), PATTEN und PHILPOTT (1921), SCHILLER (1930), SARKISSOW (1930), TARKHAN (1931), WERNER (1932, 1936/37, 1952/53), SEKI (1937), ZEIGER (1938), ROMEIS (1948), RUSKA (1954) u. v. a. ersichtlich ist. Hervorgehoben seien nur die von

HERTWIG (1931) an Arbacia-Eiern und von AMBROSIUS (1954) an isolierten Leberzellkernen beschriebenen beträchtlichen Schrumpfungen von über 50% des Volumens während der Nachbehandlung sowie die von HASELMANN (1951) außer den Schrumpfungen noch zusätzlich beobachteten erheblichen Strukturauflösungen in susa- und formolfixierten Fibroblastenkulturen bei der Einwirkung von 70 und 90%-igem Alkohol. Hierdurch wird auf das Ausmaß der Gefahren einer schädlichen Beeinflussung des histologischen Materials während dieser wichtigen Arbeitsphase hingewiesen und deutlich aufgezeigt, daß nach der Fixation noch keine endgültige Stabilisierung der histologischen Strukturelemente vorliegt, sondern noch weitere Änderungen durch die Verarbeitung stattfinden können.

Über diese Tatsache einer Einflußnahme hinaus zeigte BERG (1907), daß zwischen dem Grad der bei der Nachbehandlung auftretenden Schrumpfungen und dem verwendeten Fixierungsmittel gewisse spezifische Zusammenhänge bestehen, wie dies bereits von TELLYESNICZKY (1898) vermutet worden war. Auch dies konnte von Nachuntersuchern bestätigt werden und fand bei HERTWIG (1931) folgende Formulierung: "Die nach der Fixation erworbene Stabilität gegenüber den Einwirkungen der Nachbehandlung ist in ihrer Spezifität allein bedingt durch die Art des Fixierungsmittels."

Genauere Aussagen über die Art dieser Verknüpfung zwischen Fixation und Nachbehandlung machten PATTEN und PHILPOTT (1921) und TARKHAN (1931), die bei ihren Untersuchungen über den Einfluß der Nachbehandlung auf verschieden fixierte Objekte zu dem Ergebnis kamen, daß die während der Entwässerung auftretenden Schrumpfungen umso größer sind, je geringer die durch die Fixation bedingten Schrumpfungen waren. Zu dem gleichen Ergebnis gelangte auch LEPLAT (1934) an Modellversuchen mit Gelatine: Starke Fixierer verursachen erhebliche Schrumpfungen, die sich bei der Nachbehandlung mit Alkohol kaum vermehren; bei schwachen Fixierern ist die Schrumpfung primär geringer, verstärkt sich aber beim nachfolgenden Alkohol. Im selben Sinne zu verwerthen ist auch folgende Mitteilung von Cl. F. WERNER (1932): "Je geringer die Konzentration (des Fixierungsmittels), umso stärker sind die artefiziellen Veränderungen, wenn sie z. T. auch erst bei der Nachbehandlung in Erscheinung treten."

Es zeigte sich auch bald, daß die durch Salzzusätze u. ä. hergestellten sog. "isotonischen" Fixierer (s. oben), deren Vorzug gerade in einer Vermeidung von Schrumpfungen bei der Fixation gesehen wurde, im Endeffekt eine weit aus größere schädigende Wirkung ausüben als die reinen Fixierer. HERTWIG (1931) fand nämlich bei der Fixierung von Arbacia-Eiern mit 10%-igem For-

mol nach vollendeter Nachbehandlung einerseits Schrumpfungen bis auf 70% des Volumens, wenn zur Verdünnung des Formols Aqua dest. verwendet worden war, andererseits Schrumpfungen bis auf 48% des Volumens bei Verdünnung mit Meerwasser zur Erzielung eines isotonischen Milieus. Somit ist also bei der "isotonischen Fixierung" die primär geringe oder gar fehlende Volumenänderung mit einer erheblich stärkeren sekundären Schrumpfung bei der Nachbehandlung gekoppelt.

Viele Autoren begnügten sich aber nicht nur mit der Untersuchung der bei der Entwässerung auftretenden Erscheinungen, sondern wandten sich auch den durch das Einbettungsmittel - also in der Hauptsache dem Paraffin, daneben in geringerem Maße dem Celloidin und einigen Mischungen - verursachten Veränderungen zu.

Bereits im vergangenen Jahrhundert erwähnten KOCH (1893) und ELSCHNIG (1893) die bei der Celloidineinbettung pflanzlicher Objekte in geringerem Maße auftretenden Schrumpfungen als bei der Paraffineinbettung. Genaue Untersuchungen über den Grad dieser Veränderungen machte aber erst BERG (1907) im Zusammenhang mit seinen bereits erwähnten Untersuchungen, wobei er nach der Einbettung formolfixierter Leber- und Milzstückchen in Paraffin Schrumpfungen von 20 - 30% feststellte, die bei sublimatfixiertem Material etwas geringer waren. Außerdem bestanden noch gewisse Unterschiede je nach der Art des Ausgangsobjektes. Ebenso beschreiben PATTEN und PHILPOTT (1921) an formolfixierten Schweineembryonen außer einer raschen Schrumpfung während der Entwässerung eine abrupte Schrumpfungszunahme von insgesamt etwa 20% bei der Paraffindurchtränkung. Sie empfehlen deshalb die Celloidineinbettung, ohne jedoch hierüber Untersuchungen angestellt zu haben. Andersartig fixiertes Material wies auch andere Schrumpfungsgrade auf, so daß sich je nach der Fixation bei den eingebetteten Stücken Schrumpfungsunterschiede bis zu 12% ergaben. Auch RUSKA (1954) erwähnt die Fixationsabhängigkeit der durch das Einbettungsmittel hervorgerufenen Schädigungen. Demgegenüber kamen BLOOM und FRIBERG (1956) bei Untersuchungen an verschiedenen fixierten Schweinelebern zu dem Ergebnis, daß nach der Paraffineinbettung zwar Schrumpfungen von insgesamt etwa 20% auftreten, daß diese aber keine Abhängigkeit von dem verwendeten Fixationsmittel erkennen lassen.

Ungeachtet dieser speziellen Frage kommen fast alle Autoren, die sich mit der Beeinflussung des histologischen Objektes durch das Einbettungsmittel befaßten, wie außer den bereits erwähnten z. B. auch SCHAEDE (1928), SARKISSOW (1930), HERTWIG (1931), TARKHAN (1931), SEKI (1937) und AMBROSIUS (1954), zu dem Ergebnis, daß hierbei - zusätzlich zu den bereits bei der Fixierung und der

übrigen Nachbehandlung gesetzten Veränderungen - noch ganz erhebliche Schrumpfungen auftreten, deren Ausmaß bei der Paraffineinbettung nach RO-MEIS (1948) zwischen 8 - 20% betragen soll.

Die Ursache hierfür sieht SCHILLER (1930) in der vorherigen Alkoholpassage, ZEIGER (1938) und McCLUNG (1939) jedoch weisen auf die bei der Paraffineinbettung unvermeidliche Wärmeeinwirkung auf das hiergegen stark empfindliche histologische Material als wesentlichsten Grund der Veränderungen hin. Eine ähnliche Einstellung vertritt auch SEKI (1937). Diese Autoren empfehlen daher - ebenso wie viele andere - die Celloidineinbettung, deren Vorzüge im Wegfall der Erwärmung und damit der hierdurch bedingten Schrumpfungserscheinungen bestehen.

McCLUNG (1939) rät vor allem bei der Einbettung von Muskelpräparaten, dem Celloidin gegenüber dem Paraffin den Vorrang zu geben, da es hierbei - außer den bereits erwähnten geringeren Schrumpfungen - viel weniger zu Schrägneigungen der Fibrillen komme, was zu Entstellungen des Querschnittsbildes durch Schrägschnitte und Überlagerungen der Fibrillen und damit zu Fehldeutungen der Fibrillenordnung auf dem Querschnitt führen könne. Auch SEKI (1937/38) hat bei der Paraffineinbettung von Muskulatur schlechte Erfahrungen gemacht, da hierbei störende Verdichtungen innerhalb einzelner Fasern aufgetreten seien.

Erwähnt sei allerdings noch, daß ZEIGER (1938) auch bei der Celloidineinbettung nachteilige Veränderungen des Materials beobachtet hat, die er auf Schrumpfungen beim Eindicken des Celloidins zurückführt. Bei SEKI (1937) findet sich hierfür eine weitere Bestätigung, darüber hinaus weist er noch auf die bei ungleichmäßiger Härtung der Celloidinlösung oftmals entstehenden Sprünge mit ihren strukturzerstörenden Folgen hin.

Im Gegensatz zu den zahlreichen Untersuchungen über die durch Nachbehandlung und Einbettung verursachten Veränderungen liegen fast keine Beobachtungen über jene Stufen der histotechnischen Verarbeitung vor, die nach der Einbettung vom histologischen Schnitt fast stets noch durchlaufen werden müssen, wie Überführen in Wasser, Färben, Entwässern etc. Außer einigen wenigen Hinweisen auf die Möglichkeit einer Beeinflussung während dieser Phase fand sich nur bei AMBROSIIUS (1954) ein Meßergebnis hierüber: Bei der Untersuchung von isolierten Leberzellkernen erzielte er außer einer mehr als 50%-igen Schrumpfung im Fixierer und einer weiteren Schrumpfung bei der Entwässerung und der Paraffineinbettung eine erhebliche Quellung (etwa auf das Doppelte des durchlaufenen niedrigsten Wertes!) bei der anschließenden Hämato-

xylinfärbung. Wenn dieser Messung auch mehr der Wert eines Modellversuches beizumessen ist, so hat AMBROSIUS hiermit jedoch nachgewiesen, daß diese Stufe der Verarbeitung ebenfalls bei der Beurteilung von histotechnischen Arbeitsverfahren nicht unberücksichtigt bleiben darf, da es auch hier noch zu erheblichen Strukturveränderungen kommen kann.

3. Fixationszeitpunkt

Als weiterer wesentlicher Faktor im histotechnischen Arbeitsgang hat sich noch der Zeitpunkt der Fixation bzw. die Zeitdauer, die post mortem bis zum Einbringen in den Fixierer vergeht, erwiesen. Die postmortal einsetzenden physikochemischen Vorgänge können nämlich je nach dem Ausgangsmaterial, dessen funktionellem Zustand (augenblickliche Stoffwechsellage) und den besonderen Umständen der Entnahme und Aufbewahrung verschieden rasch und teils auch auf verschiedenen Wegen ablaufen, so daß zu verschiedenen Zeitpunkten post mortem ganz unterschiedliche substantielle Voraussetzungen für die Ausprägung des histologischen Bildes bestehen, die dann auch zu entsprechend unterschiedlichen Strukturdarstellungen führen können. Diese Erscheinungen werden von BĚLAŘ (1928) als "vitale Artefakte" bezeichnet, da sie als agonale Veränderungen zu betrachten sind, die durch die histotechnische Verarbeitung nicht erzeugt, sondern nur festgehalten werden. Deshalb weist VOGT - ähnlich wie REICHARDT (1911) und SARKISSOW (1930) - auf Grund der je nach Dauer dieser zeitlichen Komponente unterschiedlichen Ausprägung der Großhirnzellstruktur darauf hin, daß man Zelläquivalentbilder nur bei gleichem Fixationszeitpunkt post mortem erhalten könne. Wegen ähnlicher Beobachtungen empfehlen DUFRENOY und REED (1935) eine möglichst rasche Abtötung des Gewebes mit einem schnell eindringenden Fixationsmittel, damit der Bestand an Proteinen, Aminosäuren, Glukose etc. in seiner augenblicklichen Zusammensetzung nicht durch postmortal einsetzende Reaktionen verändert werden kann, was Unterschiede im cytologischen Bild zur Folge habe.

Dieser Grunderkenntnis, daß gleiche Gewebelemente je nach ihrem postmortalen Zustand auf dasselbe Fixierungsmittel verschieden reagieren können (ZEIGER 1938), kommt aber in der Muskelhistologie noch eine speziellere Bedeutung zu, da es sich hierbei um ein besonders reaktionsfreudiges Material handelt, wie bereits KÖLLIKER (1866) hervorhob. Fixiert man nämlich einen Muskel, solange er noch reizbar ist, so werden die Fasern von der Flüssigkeit zu Kontraktionen veranlaßt, weshalb sie teilweise in kontrahiertem Zustand fixiert werden. Da aber das Fixationsmittel eine gewisse Zeit zur Diffusion benötigt, ist in anderen Teilen einer Faser die bei der ersten Berüh-

rung mit der Flüssigkeit ausgelöste Kontraktionswelle schon abgelaufen, so daß diese Abschnitte also im Ruhezustand fixiert werden (HÄGGQUIST 1951). Durch solche partiellen Kontraktionen entstehen Zerrungen und Risse, die zu erheblichen Veränderungen der Struktur, zu Verschiebungen und Verklumpungen der Fibrillen führen können, worüber vor allem THULIN (1914) bei formfixierten Muskelfasern klagt. Ähnliche Beobachtungen finden sich bei BÖHM-DAVIDOFF (1898), HOLMGREN (1910), GUTHERZ (1910), v. EBNER (1918), SCHAFFER (1918) und HÄGGQUIST (1956). Nach BARER (1948) setzt sich die Kontraktion überhaupt aus abwechselnden Einzelkontraktionen von Fibrillen und Fibrillengruppen zusammen, so daß also eine im kontrahierten Zustand fixierte Faserstelle durch diese nebeneinander bestehenden, verschiedenen funktionellen Zustände bereits ein komplexes Strukturbild aufweisen würde.

Besondere Beachtung verdient auch die Mitteilung ROUGETs (1887), daß verschiedene Fasern desselben Muskels ein unterschiedlich langes Überdauern der Erregbarkeit aufweisen: "J'ai trouvé des fibres encore vivantes et contractiles mélangées dans un même faisceau à des fibres mortes...". Diese Erscheinung eines verschieden raschen Absterbens der einzelnen Fasern führt dazu, daß bei unterschiedlichen Fixationszeitpunkten auch eine unterschiedliche Menge von noch kontraktilem neben schon toten Fasern vorliegt, weshalb also in wechselndem Ausmaß die verschiedensten Strukturbilder nebeneinander gefunden werden können. Noch verwickelter wird dieses Problem durch die Tatsache, daß bei diesem fraktionierten Absterben der Fasern noch Unterschiede je nach der Tierart bestehen.

Um eine derartige Beeinträchtigung des histologischen Bildes durch partielle Kontraktionen zu vermeiden, nimmt man herkömmlicherweise (HEIDENHAIN 1911) die Fixation von Muskelmaterial erst nach Ablauf einer genügend langen Zeitspanne post mortem vor, wenn ein Erlöschen der gesamten Kontraktilität gewährleistet ist. Nach WOHLFART (1942) und HÄGGQUIST (1951) liegt dieser Zeitpunkt frühestens bei Beginn der Totenstarre. Die Veränderungen der Muskelfeinstruktur, die während dieser Dauer auftreten, sind nach allgemeiner Auffassung weitaus geringer als die bei sofortiger Fixation durch die partiellen Kontraktionen bewirkten Strukturverzerrungen und -zerstörungen (WOHLFART 1942, HÄGGQUIST 1951, 1956, ENDERLIN 1953, ROMEIS 1948).

Im Gegensatz hierzu vertreten KRÜGER (1950, 1951, 1952, 1955, 1957) und GÜNTHER (1950, 1952, 1953, 1955) die Auffassung, daß der Muskel in lebensfrischem Zustand fixiert werden muß, wenn postmortale Artefaktbildungen verhindert werden sollen. Ihres Erachtens ist die Gefahr partieller Kontraktionen und der dadurch hervorgerufenen Schäden geringer einzuschätzen als

die durch den hohen Fermentgehalt des Muskelgewebes bedingten, schnell einsetzenden proteolytischen Veränderungen (wie von LAVES 1948 und SCHWARZFISCHER 1948 beschrieben), die schon nach kurzer Zeit zu erheblichen Strukturwandlungen führen sollen.

Beide Autoren machen diesen Einwand einer postmortalen Schädigung der Muskelfasern bei der üblicherweise erst nach Ablauf einer gewissen Zeit vorgenommenen Fixation vor allem dann geltend, wenn die von ihnen beschriebenen "fibrillen-" und "felderstrukturierten" Fasern (s. oben) von Nachuntersuchern nicht in entsprechender Weise gefunden werden. So ist dies auch das Hauptargument gegen die ihren Auffassungen widersprüchlichen Untersuchungsergebnisse von KNOLL und BARKLEY (1941), von BRECHT und FENEIS (1950) und von FRICK (1954).

Andererseits werden gerade diese von ihnen beschriebenen Strukturformen von verschiedenen Autoren als fixationsbedingte Artefakte angesehen und abgelehnt. HÄGGQUIST (1956) verurteilt die von KRÜGER angewandte Methode der lebensfrischen Fixierung, da sie durch die hierbei unvermeidlichen partiellen Kontraktionen (s. oben) eine Schädigung oder gar Zerstörung der vitalen Strukturen zur Folge habe. Gleichzeitig weist er darauf hin, daß viele Fasern, die nach KRÜGER Felderstruktur besitzen, Fixierungsartefakte zeigen.

WILKES (1956) untersuchte am M. gastrocnemius von Mäusen phasenkontrastmikroskopisch die Veränderungen in der Feinstruktur, die sich nach verschiedenen langen Zeiträumen nach der Entnahme, in verschiedenen Mitteln und nach Zusatz von Fixierungsflüssigkeiten ergeben. Dabei kam er zu folgenden Ergebnissen: "Die Fixierung des gleichen Muskels in verschiedenen Zeitabständen ergab jedesmal unterschiedliche Bilder. Bei späterer Fixierung waren die Myofibrillen gleichmäßig über den Querschnitt verteilt. Bei Fixierung zu früherem Zeitpunkt bildeten die Fibrillen kurze Ketten und Girlanden. Es konnten aber auch Fasern beobachtet werden, wo beide Arten nebeneinander bestanden." WILKES schließt aus diesen Vorgängen, daß es sich nicht um zwei verschiedene Arten von Muskelfasern handeln könne, sondern daß sich die Fibrillenkomplexe, die dann als Felder oder Säulchen imponieren, erst während der histologischen Behandlung bilden: "Es muß daraus entnommen werden, daß die Anordnung der Fibrillen in den Querschnitten der quergestreiften Muskelfaser überwiegend durch die Art der Vorbehandlung und den Zeitpunkt nach dem Tode, zu dem die Konservierung vorgenommen wurde, bestimmt wird."

In diesem Zusammenhang erscheint es bemerkenswert, daß KRÜGER wiederholt darauf aufmerksam gemacht hat, daß die Fasern mit Felderstruktur besonders empfindlich seien und deshalb nur bei sofortiger Fixierung nachzuweisen sind, während sich zu späteren Zeitpunkten einheitlich nur fibrillenstrukturierte Fasern finden ("Fibrillen" entstehen leichter als "Felder". 1952).

Interessanterweise hat bereits ROLLETT (1889) darauf hingewiesen, daß bei rascher Härtung ganz frischer Muskeln die COHNHEIMsche Felderung gut ausgeprägt sei, bei einer verzögerten Härtung sich aber nur verwischt darstelle, weil dann eine gleichmäßigere Verteilung der Fibrillensubstanz und des dazwischenliegenden Sarkoplasmas auftrete.

C. FRAGESTELLUNG

Nach diesen Darlegungen ist es verständlich, daß die Ausprägung der Muskelstrukturen im mikroskopischen Präparat aufs engste mit dem Problem der histotechnischen Artefaktbildung verknüpft ist. Allerdings ist die Beurteilung dieser Zusammenhänge sehr schwierig, da die verschiedenartigen Mitteilungen über die feinere Muskelmorphologie so zahlreich sind, daß man als Ursache nicht jedesmal grundlegende Unterschiede in der Aufbereitungsweise des Materials annehmen kann, ebensowenig wie sich für diese Fälle immer funktionelle Erklärungen heranziehen lassen. Es erhebt sich deshalb die Frage, ob schon bei den allergebräuchlichsten Fixierungs- und Einbettungsverfahren sowie bei üblicherweise vorkommenden Abweichungen im Fixationszeitpunkt voneinander differierende Strukturbilder erhalten werden, und ob somit für einige der oben zitierten widersprüchlichen Beobachtungen über die Querschnittsgröße, Fibrillendicke und -anordnung eine Deutung zu finden ist.

Wie aus der Literaturübersicht hervorgeht, sind die diesbezüglichen Zusammenhänge in der Muskelhistologie nur zu einem geringen Teil geprüft worden. Im übrigen übertrug man einfach die bei anderen Untersuchungen erzielten Resultate auch auf das Muskelgewebe, ein Vorgehen, das wegen der unterschiedlichen Reaktionsmöglichkeiten immer sehr fragwürdig erscheinen muß (s. oben). Die meisten dieser Kenntnisse gehen zudem auf Beobachtungen nur einzelner Phasen des histotechnischen Geschehens zurück, vermögen also keinen Aufschluß über die Gesamtauswirkung eines Arbeitsganges zu geben, da ja die endgültige Ausprägung des histologischen Bildes immer nur von dem komplexen Zusammenwirken aller Arbeitsstufen bestimmt wird. Da über die

Effekte der hierbei möglichen Kombinationen begreiflicherweise keine Mitteilungen vorliegen, außerdem auch noch bisher unbekannte Noxen beteiligt sein können, ist es im Einzelfall sehr schwierig, aus den verschiedenen beobachteten Teilerscheinungen eine brauchbare Vorstellung über die Auswirkungen und damit den Wert eines bestimmten histotechnischen Arbeitsverfahrens zu gewinnen. Deshalb wurden bei der vorliegenden Untersuchung über die Einwirkung verschiedener Fixations- und Einbettungsmittel und Fixationszeitpunkte auf die Gestaltung des Strukturbildes der quergestreiften Muskelfasern immer die (auf verschiedene Weise gewonnenen) Fertigpräparate beurteilt, da sie sämtliche bei einer bestimmten Arbeitsweise vorkommenden Beeinflussungen erfahren haben und damit auch die praktisch wichtigen sekundären Veränderungen in sich bergen.

D. MATERIAL UND METHODE

Verwendet wurden Muskelstückchen aus dem proximalen Drittel des M. gastrocnemius eines 62-jährigen Mannes, dessen Unterschenkel wegen arteriosklerotischer Durchblutungsstörungen am Fuß abgesetzt werden mußte. Das Material wurde teils 1 Std. post operationem und teils 6 Std. post operationem entnommen, so daß 2 Reihen mit zeitlich verschiedenem Ausgangspunkt entstanden. Diese wurden wiederum in 2 Serien aufgeteilt, die eine unterschiedliche Fixation erfuhren, und zwar die eine in Susa (ROMEIS 1948 § 344) und die andere in Formol (40%-ig, 1 : 4 verd.). Hiervon wurde dann ein Teil in Paraffin, der andere in Celloidin eingebettet. Somit entstanden insgesamt also 8 Reihen, die sich jeweils in einem fraglichen Punkt voneinander unterschieden: In der zeitlichen Entnahme, in der Fixation und in der Einbettung. Alle übrigen histologischen Maßnahmen wurden bei allen Präparaten in völlig gleicher Weise durchgeführt, so daß sie beim Vergleich unberücksichtigt bleiben können.

Hierzu einige technische Details: Verweildauer in Susa je nach Größe 1 - 2 Tage. Dann: Jodalkohol - 90% - 3 x 96% - 3x 98%-iger Alkohol. Verweildauer in Formol je nach Größe 3 - 4 Tage. Dann 3 x 96% - 3x 98%-iger Alkohol. Paraffineinbettung: 4 x Methylbenzoat - 2x Benzol - Benzolparaffin - 3x Paraffin. Celloidineinbettung: Alkohol-Äther-Gemisch - 2% - 4% - 8%-ige Celloidinlösungen. Härten in 70%-igem Alkohol. Paraffinschnitte (8 μ m) mit Eiweiß-Glycerin aufgeklebt, im Wärmeschrank getrocknet, Entparaffinierung: 2x Xylol - 2x 98% - 2x 96% - 80% - 70%-iger Alkohol - 2x Aqua

dest. Celloidinschnitte ($10\mu\text{m}$) in 70% - 40%-igem Alkohol - Aqua dest. Eisenhämatoxylinfärbung nach HEIDENHAIN. Entwässerung: 70% - 80% - 2x 96% - 2x 98%-iger Alkohol. Caedax.

Als Maßstab für die verschiedenartige Beeinflussung des Muskelbildes durch die vorgenannten Faktoren wurde die durchschnittliche Größe der Muskelfaserquerschnitte in den einzelnen Präparaten genommen. Außerdem wurden die Fibrillendicke, -form und -anordnung sowie das übrige Verhalten der Feinstruktur beurteilt.

Zur Darstellung der gröberen morphologischen Unterschiede zwischen den einzelnen Serien wurden einige Übersichtsmikrophotogramme angefertigt (Leitz Panphot, Objektiv 40mal, Periplanokular 6mal, Kameraauszug 36 cm, Abbildungsmaßstab 432 : 1, Bogenlampe, Gelbgrünfilter, Perutz Perulithplatte P 13), während die Beurteilung der feineren strukturellen Verhältnisse innerhalb der einzelnen Fasern mittels Ölimmersion (Objektiv 100 : 1, Okular 10mal) vorgenommen wurde.

Die Querschnittsbestimmung erfolgte am Leitz-Panphot, indem die zur Einstellung dienende Mattscheibe durch eine Kiarglasscheibe und ein Blatt Millimeterpapier ersetzt wurde und die Konturen der hierauf scharf eingestellten Faserquerschnitte möglichst genau bei 400-facher linearer Vergrößerung nachgezeichnet wurden. Die Vergrößerung wurde durch wiederholte Projektion eines Objektmikrometers kontrolliert. Die erhaltenen Flächen wurden direkt durch Auszählen der Quadratmillimeterfelder unter Berücksichtigung der angeschnittenen Felder bestimmt. Da dies bei allen Querschnitten in völlig gleicher Weise erfolgte, ist der rein methodische Fehler überall derselbe, so daß die erhaltenen Werte ohne weiteres untereinander vergleichbar sind. Die Fehlerbreite dieser Meßmethode (Zeichnen und Auszählen) wurde durch 50maliges Zeichnen und Auszählen einer bestimmten Faser mittlerer Größe festgestellt und beträgt danach 3%, ist also in der Genauigkeit durchaus anderen Methoden vergleichbar.

Auf diese Weise wurden in jeder der 8 Reihen mindestens 100 Querschnittsflächen bestimmt. Um einen möglichst sicheren Überblick zu bekommen und um jede einseitige Auswahl der zu messenden Fasern zu vermeiden, wurden diese nur gruppenweise und an verschiedenen Stellen desselben Schittes gezeichnet. Auch wurden immer nur reine Querschnitte verwendet, was dadurch festgestellt wurde, daß sie beim Drehen an der Mikrometerschraube keinerlei Neigung zu Querstreifungsbildern aufwiesen.

E. ERGEBNISSE⁺

I. Veränderungen der Muskelfaserquerschnittsgröße

Die statistische Auswertung der erzielten Resultate wurde durch die Berechnung des arithmetischen Mittels mit dem dazugehörigen Fehler in jeder Reihe vorgenommen, nachdem sich bei der Bestimmung der Mediane gezeigt hatte, daß keine wesentliche Beeinflussung der Durchschnittswerte durch die Extremfälle vorliegt. Die Angaben erfolgen in Quadratmillimeter der gezeichneten Flächen. Eine Umrechnung in absolute Werte (Quadratmikron) wurde zwar vorgenommen, bei den Vergleichen aber nicht verwendet.

Da außer der Feststellung der eigentlichen durchschnittlichen Größenunterschiede zwischen den verschiedenen behandelten Serien auch noch die Frage von Interesse war, ob innerhalb einer jeden Reihe die Größenverteilung der Einzelquerschnitte, also die Streubreite, eine Abhängigkeit von der vorgenommenen Bearbeitung aufweist, wurde als relatives Streuungsmaß der Variabilitätskoeffizient nach PEARSON angegeben ($V = \frac{\sigma \cdot 100}{M}$)

Hiernach ergab sich folgende Aufstellung:

- Tab. I -

Eine Prüfung dieser Mittelwerte auf Vergleichbarkeit durch Bestimmung der signifikanten Differenz (WEBER 1948) führte zu folgendem Resultat:

- Tab. II -

Da bei der Beobachtungszahl von jeweils 100 pro Reihe das Auftreten von Werten über 3 beweist, daß statistisch gesicherte Unterschiede bestehen, liegen also nur die Differenzen zwischen den Serien A und B sowie den Serien D und E innerhalb des Zufallbereiches. Alle übrigen Differenzen sind dagegen signifikant.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist zu beachten, daß die zu prüfenden Einflüsse der drei histologisch-technischen Faktoren in jedem Präparat kombiniert vorliegen, und daß nur die Art dieser Kombination in den einzelnen Reihen variiert ist. Es können also nicht ohne weiteres aus obigen Zahlen sofort genaue Rückschlüsse auf die Einzelwirkung dieser Faktoren gezogen wer-

⁺ (Tabellen und Abbildungen im Anhang)

den. Hierzu müssen die Ergebnisse im Hinblick auf jede einzelne dieser Fragen erst einander gegenübergestellt und umgerechnet werden. Bei den sich dabei ergebenden Vergleichsmöglichkeiten wurden jeweils die größeren Zahlen als Bezugsmaß angenommen, da sie den am wenigsten geschrumpften Fasern entsprechen. Sie wurden deshalb in den Tabellen gleich 100 gesetzt und die damit zu vergleichenden Zahlen in Abhängigkeit davon als Prozente ausgedrückt. Zur besseren Charakterisierung der Unterschiede wurden noch die Differenzen dieser Werte angegeben, was gleichbedeutend mit dem prozentualen Grad der Veränderungen ist, sowie in einer weiteren Spalte das Verhältnis K der beiden gegenüberstehenden Größen. Letzteres läßt erkennen, mit welchem Faktor man den ersten Wert multiplizieren muß, um den zweiten zu erhalten, und ist somit ein einfacher Maßstab für die Richtung und das Ausmaß der vorliegenden Unterschiede.

Beim Vergleich der Streubreiten der verschiedenen Reihen wurde in derselben Weise verfahren, nur erwies es sich hier als vorteilhaft, die kleinste Streuung als Bezugsmaß gleich 100 zu setzen und die Streuungszunahme bei einer bestimmten Behandlung in Abhängigkeit davon prozentual auszudrücken.

In einer letzten Spalte wird dann jeweils noch das Verhältnis $K : k$ angeführt, das angibt, ob die Veränderungen der Querschnittsflächen und die der dazugehörigen Streubreite durch die zur Frage stehende Noxe im selben Grade beeinflußt werden. Bei Werten nahe um 1 ist dies der Fall, je weiter sie davon abweichen, desto größer ist der Unterschied zwischen der Beeinträchtigung der Querschnitte und der Veränderung der betreffenden Streuung.

Nun die Ergebnisse im einzelnen:

1. Der Einfluß des Fixierungszeitpunktes

Zur genauen Darlegung der Abhängigkeit der Faserquerschnittsgröße vom Zeitpunkt der Konservierung wurden die unter verschiedenen Bedingungen erzielten Querschnittsmittelwerte einander derart gegenübergestellt, daß sich zwei Reihen ergaben, die sich nur durch die post operationem bis zur Fixierung verstrichene verschiedene Zeitdauer unterscheiden, und die dann wie oben verglichen wurden:

- Tab. III -

Hieraus läßt sich eindeutig erkennen, daß die Präparate, die 6 Std. post operationem hergestellt wurden, gegenüber jenen der 1-Std.-Reihe durchweg ganz erhebliche Schrumpfung aufweisen, die insgesamt betrachtet in einer Größenordnung von rund 50% liegen ($K \approx 0,5$). In ihrem Einzelausmaß variieren sie

jedoch beträchtlich (von 32 - 60%), da sie erst durch das Hinzutreten der anderen Faktoren (Fixierungs- und Einbettungsmittel) näher bestimmt werden.

Bezüglich der Faserquerschnittsverteilung innerhalb einer Reihe läßt sich ersehen, daß mit der vermehrten Schrumpfung nach 6 Std. eine größere Streubreite der Fasern ($k > 1$) gekoppelt ist, als sie bei den Querschnitten der 1-Std.-Reihe vorliegt. Die Zunahme des Streuungsgrades beträgt etwa 50% ($k \approx 1,5$), wenn man die in Susa fixierten und in Celloidin eingebetteten Schnitte (Serien B und F) außer Betracht läßt, die praktisch eine unveränderte Streuung aufweisen. Aus dem Verhältnis K/k ergibt sich, daß die Streuung nicht im selben Maße wie die Schrumpfung nach 6 Std. zugenommen hat, sondern nur etwa ein Drittel mal so stark ($K/k \approx 0,33$).

Der nach 6 Std. am geringsten veränderte Wert findet sich bei den celloidin-eingebetteten Susapräparaten, die nur um durchschnittlich 32% kleiner gewordene Faserquerschnitte und praktisch keinen Unterschied in der Streuung ausweisen. Die größte Differenz besteht demgegenüber bei den in Paraffin eingebetteten Formolpräparaten mit einer Mehrschrumpfung von 60% und einer Streuungszunahme von 50%. Nur bei den in Celloidin eingebetteten Formolpräparaten ist die Streuung nach 6 Std. mit 70% noch größer.

2. Der Einfluß des Fixierungsmittels

Bereits in der vorhergehenden Betrachtung wurde ersichtlich, daß über den rein zeitlichen Faktor hinaus vor allem noch dem Fixierungsmittel eine besondere Bedeutung für das Ausmaß der Veränderungen beizumessen ist. Untersucht man nun die gefundenen Werte speziell in dieser Hinsicht, indem man wiederum zwei Reihen bildet, die sich nun aber bezüglich ihrer Fixierung voneinander unterscheiden, und diese Zahlen dann wie oben behandelt, so kommt man zu folgender Aufstellung:

- Tab. IV -

Hieraus ergibt sich eindeutig, daß die Formolfixierung in jedem Falle (bei unterschiedlichem Fixationszeitpunkt und Einbettungsmittel) stärker schrumpfend wirkt als die Susafixation, wobei der Schrumpfungsgrad im einzelnen jedoch wieder in hohem Maße von der übrigen Behandlung abhängig ist. Bei der 1-Std.-Reihe sind nämlich die formolfixierten Fasern deutlich größer als bei der 6-Std.-Reihe. Während sie bei ersteren noch rund Dreiviertel der entsprechenden Susagröße betragen ($K = 0,85$ bzw. $0,61$), sind sie bei der letzteren im Mittel nur noch etwa halb so groß ($K = 0,63$ bzw. $0,42$). Ins-

gesamt betrachtet resultiert hieraus für die mit Formol fixierten Faserquerschnitte eine Mehrschrumpfung von gut einem Drittel ($K \approx 0,63$) gegenüber den susafixierten.

Der geringste Unterschied zwischen formol- und susafixierten Fasern findet sich bei Fixation nach 1 Std. und Einbettung in Paraffin ($K = 0,86$), der größte dagegen nach 6 Std. in der Celloidineinbettung ($K = 0,42$).

Die Streubreite zeigt nur so geringfügige Unterschiede, daß sie in beiden Fixationsreihen praktisch als gleich zu bezeichnen ist ($k \approx 0,9$). Eine Ausnahme machen nur die nach 1 Std. in Celloidin eingebetteten Schnitte, die in Formol nur eine halb so große Streuung der Faserquerschnitte zeigen wie in Susa ($k = 0,52$). Es besteht also auch hierbei keine gleichsinnige Beeinflussung der Faserquerschnitte und der Streubreite.

3. Der Einfluß des Einbettungsmittels

Unverkennbar ist bei all diesen Wertvergleichen auch eine gewisse Einflußnahme des Einbettungsmittels auf den Grad der Veränderungen, wie dies wiederholt schon angedeutet wurde. Macht man eine entsprechende Gegenüberstellung der Meßreihen und verfährt mit den Querschnitts- und Streuungsmaßen wie bei den vorhergehenden Vergleichen, so ergibt sich ein klares Bild dieser Zusammenhänge:

- Tab. V -

Aus dieser Tabelle läßt sich der spezifische Einfluß der beiden Einbettungsmittel auf die Faserquerschnittsgröße in seinem ganzen Umfang deutlich ablesen, wobei vor allem die je nach Fixation ganz unterschiedliche Auswirkung der Einbettung auffällt:

Bei den Susapräparaten erweist sich die Celloidineinbettung weniger schrumpfend als die Paraffineinbettung. Dies kommt zwar bei den 1-Std.-Werten nicht zum Ausdruck, da hier kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Reihen besteht, wird dagegen aber bei den 6-Std.-Präparaten deutlich, da hier die in Paraffin eingebetteten Schnitte um 20% mehr geschrumpft sind als die entsprechenden Celloidinschnitte.

Bei den Formolpräparaten ist es in gewissem Sinne umgekehrt, indem nämlich die am wenigsten geschrumpften Fasern in der Paraffineinbettung zu finden sind, während demgegenüber das Celloidin um rund 20% größere Schrumpfungen bewirkt.

Hinsichtlich der Streuung lassen sich etwa um ein Viertel kleinere Werte im

Celloidin feststellen ($k \approx 0,71$), wenn man vom 1-Std.-Susa-Wert absieht, der keinen wesentlichen Unterschied in beiden Reihen aufweist. Wie der Quotient $K/k \approx 1$ angibt, sind die Veränderungen der Streubreite und der mittleren Faserquerschnittsgröße im selben Verhältnis vor sich gegangen, nur beim 6-Std.-Susa-Wert besteht ein anderes Verhalten, da die Streuung im Celloidin auf $2/3$ zugenommen hat, während die Querschnitte insgesamt um $1/4$ größer sind als in Paraffin.

4. Die kombinierte Wirkung der drei Faktoren

Wie bereits oben erwähnt, liegen die in den vorhergehenden Ausführungen dargestellten Einflüsse von Fixationszeitpunkt, Fixierungs- und Einbettungsmittel in den fertigen Präparaten immer in wechselnder Weise kombiniert vor und lassen sich deshalb in ihrem Ausmaß nicht völlig unabhängig voneinander betrachten. Die Aufschlüsselung und Beurteilung obiger Ergebnisse wird dabei noch besonders durch die Tatsache beeinträchtigt, daß das endgültige histologische Bild nicht auf einer einfachen Summation der Einzelwirkungen dieser Faktoren beruht, sondern seine spezielle Ausprägung dadurch erfährt, daß jeder dieser Faktoren bei einer unterschiedlichen Kombination der beiden anderen auch etwas verschiedene Effekte hervorrufen kann. Wenn somit bei der Einzelbeurteilung dieser Faktoren infolge der hier angewandten Methode auch einige Schwierigkeiten bestehen, so ergeben sich daraus doch bei einer zusammenfassenden Betrachtung zahlreiche Aufschlüsse über die unterschiedlichen Veränderungen des Materials bei einer verschiedenartigen Behandlung:

Die geringsten Schrumpfungen der Faserquerschnitte erhält man bei einer Entnahme des Materials 1 Stunde post operationem und einer Fixations mit Susa. Die Art des Einbettungsmittels spielt hierbei keine Rolle. Fixiert man stattdessen zum gleichen Zeitpunkt mit Formol, so fallen die Querschnitte durchweg kleiner aus, und zwar in Abhängigkeit vom Einbettungsmittel etwas verschieden; in Paraffin sind die formolfixierten Fasern nur um 15%, in Celloidin dagegen um 39%, also um ein gutes Drittel mehr geschrumpft als die entsprechenden Querschnitte in der Susafixation. Die Kombination Formol-Celloidin hat demnach bei den 1-Std.-Präparaten das ungünstigste Ergebnis.

Die stärksten Schrumpfungen ergeben sich demgegenüber, wenn man das Material erst 6 Stunden post operationem entnimmt, wobei im Mittel die Faserquerschnitte nur rund halb so groß sind wie bei den 1-Std.-Präparaten. Dabei zeigt sich ebenfalls die Susafixierung der Formolfixierung überlegen, da sie um etwa 20% geringfügigere Veränderungen hervorruft. Weiterhin ist hierbei

eine deutliche Beeinflussung durch das Einbettungsmittel unverkennbar: Die Susapräparate sind in Celloidin weniger geschrumpft als in Paraffin, die Formolpräparate allerdings in Celloidin wiederum deutlich mehr als im Paraffin. Somit erhält man nach 6 Stunden die am wenigsten veränderten Präparate, wenn man sie in Susa fixiert und in Celloidin einbettet, ein Maximum an Schrumpfungen gibt es dagegen, wenn man eine Formolfixation vornimmt und diese mit einer Celloidineinbettung kombiniert. Die Faserquerschnitte sind dann über die Hälfte kleiner als jene, die man bei den vorhergenannten Maßnahmen erhält.

Insgesamt betrachtet erweist sich also zur Erzielung eines möglichst geringen Schrumpfungsgrades die Entnahme des Materials 1 Stunde post operationem weitaus am günstigsten. Den gleichen Vorrang hat die Susafixierung gegenüber jener mit Formol, was zwar schon bei den 1-Std.-Präparaten deutlich zum Ausdruck kommt, sich aber bei den 6-Std.-Präparaten in noch weit stärkerem Maße auswirkt. Bezüglich der Einbettung ergibt sich ein Vorteil des Paraffins bei der Formolfixation (Celloidin schrumpft um 20% mehr). Bei der Susafixation liefert dagegen die Celloidineinbettung im selben Maße bessere Ergebnisse. Hinsichtlich des Fixationszeitpunktes lassen sich keine besonderen Vorzüge für das eine oder andere Einbettungsmittel mit Sicherheit erkennen.

Einen Überblick über die graduellen Unterschiede der durch die verschiedenen Kombinationen bedingten Schrumpfungen vermittelt folgende Aufstellung, in welcher die am wenigsten beeinträchtigte Serie an den Anfang gestellt ist und die anderen nach abnehmender Güte angefügt und in Prozenten von ersteren ausgedrückt sind:

- Tab. VI -

Zur richtigen Beurteilung dieser Werte ist noch zu beachten, daß die als Bezugsgröße festgelegte Serie keineswegs dem wirklichen Muskelfaserquerschnitt entspricht, sondern selbst bereits zahlreiche Veränderungen in sich birgt.

Übersichtlicher werden alle die geschilderten Zusammenhänge, wenn man die Werte aus Tabelle VI in Form einer graphischen Darstellung zum Ausdruck bringt:

- Tab. VII -

Dabei wurden die entsprechenden 1- und 6-Std.-Werte ineinander gezeichnet, wodurch der enorme Einfluß des zeitlichen Faktors besonders deutlich zu Tage tritt. Außerdem scheiden sich darin die beiden Fixationsmittel als zweitstärkste beeinflussende Faktoren sicher voneinander, während die geringergradige Abhängigkeit vom Einbettungsmittel in ihrem spezifischen Zusammenhang mit dem Fixierer ebenfalls zu erkennen ist.

Bei zusammenfassender Betrachtung des Verhaltens der relativen Streuung bei verschiedener histologisch-technischer Behandlung ergibt sich als Wesentlichstes, daß auch sie unterschiedlichste Beeinflussungen aufweist, die jedoch durchaus nicht mit den Veränderungen der dazugehörigen mittleren Faserquerschnittsgrößen parallel gehen. Trägt man zur besseren Übersicht dieser Zusammenhänge die Streuungsmaße aus Tabelle I als graphische Darstellung auf, in der wiederum die 1- und 6-Std.-Werte ineinander gezeichnet sind, so erhält man:

- Tab. VIII -

Daraus lassen sich - unter Berücksichtigung der bereits über die Streuung gemachten Aussagen - folgende Beziehungen ablesen: Wohl die deutlichste Differenz im Streuungsgrad ist bei dem zu verschiedenen Zeitpunkten verarbeiteten Material zu konstatieren, da nach 6 Std. die Werte beträchtlich höher liegen als nach einer Stunde. Fast ebenso klar scheidet sich die niedrigere Streuung in der Celloidineinbettung von der höheren im Paraffin.

Nur die in Susa fixierten und in Celloidin eingebetteten Schnitte (Serien B und F) fügen sich nicht in diesen Rahmen: Bei ihnen findet sich nach 6 Std. eine etwas geringere Streuung als nach 1 Std., zudem ist der Unterschied zwischen beiden Werten nicht sehr bedeutsam. Weiterhin weisen die Susa-Präparate - im Gegensatz zu den übrigen Reihen - bei den 1-Std.-Präparaten in verschiedener Einbettung praktisch dieselbe Streuung auf. Somit zeigen also diese Serien trotz verschiedener Behandlung relativ wenig veränderte Streuwerte.

Hinsichtlich etwaiger Beeinflussungen durch das Fixierungsmittel läßt sich kein durchgehender Zusammenhang erkennen. Erwähnt sei hierbei nur, daß sich der kleinste vorkommende Streuungsgrad bei einer formolfixierten, der höchste bei einer susafixierten Reihe findet.

II. Veränderungen der Muskelfaserfeinstruktur

Nach Feststellung dieser beträchtlichen Variationen der Faserquerschnittsgröße erhebt sich nunmehr die Frage, ob auch die Muskelfaserfeinstruktur, die Anordnung, Dicke, Dichte und Form der Fibrillen, die Beschaffenheit des Sarkoplasmas u. a. irgendwelche Veränderungen durch die verschiedenartige Behandlung erfahren haben. Hierzu folgende Betrachtung der einzelnen Reihen: ⁺

⁺ (Übersichtsphotogramme im Anhang)

Serie A (1-Std. -Susa-Paraffin - s. Abb.1 -): Die Faserquerschnitte sind überwiegend rund bis oval und teils wegen der relativ dichten Anordnung etwas gegeneinander abgeplattet. Zwischen ihnen findet sich nur spärliches Bindegewebe in Form schmaler Septen und kleiner Zwickel. Die Querschnitte weisen nur vereinzelt Risse und nur geringfügig COHNHEIMSche Felder auf. Die Fibrillen sind durchweg gleichmäßig über den Querschnitt verteilt, mit ziemlich regelmäßigen interfibrillären Sarkoplasmaräumen, die nur manchmal zu etwas breiteren Bahnen ausgeweitet sind. In einigen Fasern sind die Sarkoplasmaanteile jedoch deutlich größer als in anderen, so daß sich Fasern mit verschiedener Fibrillendichte voneinander unterscheiden lassen. Auch die Dicke der Fibrillen kann in verschiedenen Fasern verschieden sein, aber auch im selben Querschnitt finden sich oft Fibrillen mit auffälligen Kaliberunterschieden. Ebenso können sie hinsichtlich ihrer Querschnittsform variieren: neben den vorwiegend runden kommen zahlreiche drei- und vieleckige, teils auch unregelmäßige Gebilde vor. In Fasern mit COHNHEIMScher Felderung und solchen mit besonders starker Schrumpfung findet man manchmal eine reihenweise Anordnung der Fibrillen oder Kettenbildungen, wobei sich aber meistens deren Zusammensetzung aus dicht gepackten Einzelfibrillen noch erkennen läßt. Nur in wenigen Fasern ist dies nicht möglich, so daß deren Querschnittsbild von feinen, mehr oder minder langen Bändern geprägt wird, neben denen sich aber gleichzeitig oft noch verschieden dicke Einzelfibrillen finden lassen. Wenige Fasern mit extrem starker Schrumpfung weisen derartige Ballungen der kontraktile Substanz auf, daß entweder zentral oder peripher oder insgesamt eine dunkle Färbung zustande gekommen ist, die keine Differenzierung mehr zuläßt. Teilweise sind diese Fasern auch von groben Spalten durchzogen.

Serie B (1-Std. -Susa-Celloidin - s. Abb.2 -): Die Fasern sind großteils oval, aber gegenüber jenen in Serie A etwas dichter liegend, oftmals mit dem Sarkolemm direkt aneinander angrenzend, so daß häufiger Abplattungen zu finden sind. Die Bindegewebszwischenräume sind nur ganz geringgradig ausgebildet. Die Fibrillen sind etwas feiner als in A und weisen im selben Querschnitt nur selten wesentliche Dickenunterschiede auf. Die wenigen gröberen Fibrillen haben - im Gegensatz zu den übrigen, meist rundlichen Fibrillen - eine bizarrere Querschnittsform und machen einen verklumpten Eindruck. Die Anordnung der Fibrillen ist regelmäßiger als in Serie A. Die Sarkoplasmaanteile sind schmaler und feiner ausgebildet, weshalb die Fibrillen durchweg dichter nebeneinander liegen. Es finden sich kaum Zeichen einer Schrumpfung, auch keine nennenswerte COHNHEIMSche Felderung, so daß das ziemlich uniforme Bild der fibrillenstrukturierten Fasern praktisch nicht beeinträchtigt wird. In

manchen Querschnitten liegen neben den dünnen Einzelfibrillen auch angedeutete Ketten- und Girlandenbildungen vor, zwischen denen schmale Sarkoplasmastraßen ausgebildet sind. Diese Erscheinungen lassen sich aber größtenteils in sich überlagernde Schrägschnitte von Fibrillen zerlegen. Nur in einigen Querschnitten gelingt eine derartige Differenzierung der feinen Bänder nicht.

Serie C (1-Std. -Formol-Paraffin - s. Abb. 3 -): Die Muskelfasern liegen dicht gepackt nebeneinander, so daß sie weitgehend polygonal abgeplattet sind und nur ganz schmale Bindegewebssepten zwischen sich aufweisen. In den Querschnitten finden sich zahlreiche unregelmäßige Spalten und optisch leere Räume, wodurch der Eindruck innerer Zerreibungen und Verschiebungen erweckt wird. Auch ist die COHNHEIMsche Felderung stark ausgeprägt, was zu einer weiteren Beeinträchtigung des Bildes führt. Es finden sich zwar auch ebenso feine Fibrillen wie in Serie A, jedoch sind diese hier weit in der Minderzahl, während sie dort überwiegen. Hier sind sie aber nicht durchweg dicker, sondern auch unregelmäßiger geformt. Teils stehen die Fibrillen in einer ziemlich regelmäßigen Anordnung dicht nebeneinander in einem gleichmäßigen Sarkoplasmanetz. Oft treten aber auch eine unterschiedlich große Anzahl von Fibrillen gruppenweise unter teilweiser Verdrängung des interfibrillären Sarkoplasmas zusammen, so daß gewisse polygonale Areale vorliegen, die durch breitere Sarkoplasmazüge voneinander getrennt werden. Häufig finden sich auch Aneinanderreichungen der Fibrillen zu verschiedenen langen Ketten, die meist eine Zusammensetzung aus Einzelfibrillen erkennen lassen, jedoch nicht so fein durchgebildet sind und nicht solche Einzelheiten aufweisen wie die entsprechenden Bilder in Serie A. Teils liegen aber auch Bandformen vor (in denen sich keine Fibrillen differenzieren lassen), die entweder reihenweise ausgerichtet sind, aber auch wirt durcheinander liegen können. Manche kurze, kommaförmige Streifchen sind als Fibrillenschrägschnitte erkennbar, andere wiederum nicht, da sie im selben Querschnitt dicht neben runden Einzelfibrillen liegen. Insgesamt ist die Feinstruktur grober als in Serie A, da die verschiedenartigsten geformten und unterschiedlich großen Komplexe kontraktiler Substanz zusammen mit verschiedenen stark ausgebildeten Fibrillen wirt durcheinander liegen, wobei das unregelmäßige Bild durch die erheblichen COHNHEIMschen Felderungen und die reichlich vorhandenen Spalten noch unruhiger wird. Auch jene Fasern, die gleichmäßiger durchstrukturiert sind, haben ein gröberes und dichteres Fibrillenbild als in Serie A.

Serie D (1-Std. -Formol-Celloidin - s. Abb. 4 -): Die Muskelfasern sind dicht aneinander gelagert und damit zu Polygonen abgeplattet, mit nur ganz geringen Bindegewebssepten. Es finden sich praktisch keine Risse und kaum COHNHEIMsche Felderungen. Die Fibrillen sind dünner als in Serie C. Es liegen aber in vereinzelt Fasern wesentliche Unterschiede in der Fibrillendicke vor, teils Verklumpungen, auch bestehen deutliche Formunterschiede. Die Anordnung der Fibrillen ist weitaus regelmäßiger als in der Serie C, auch dichter mit regelmäßigeren und schmäleren Sarkoplasmazügen. Ganz vereinzelt finden sich in den überwiegend mit Einzelfibrillen angefüllten Fasern auch kurze Bänder, doch sind diese viel feiner ausgebildet als in C und erreichen nie deren Ausmaß.

Serie E (6-Std. -Susa-Paraffin - s. Abb. 5 -): Die Fasern sind stark polygonal deformiert und mosaikartig dicht aneinandergelagert, mit nur ganz geringen Bindegewebszwickeln. Teils sind die Sarkolemmmembranen nicht mehr deutlich erkennbar, so daß die Faserkonturen oft unscharf, aufgelöst und verwaschen erscheinen. Es finden sich nur selten COHNHEIMsche Felder und praktisch keine Risse. Die Fibrillen sind durchweg recht fein ausgebildet, aber oft auch innerhalb desselben Querschnittes verschieden dick und unterschiedlich geformt: rund, oval, komma-, ring-, U-förmig. Daneben gibt es aber auch noch Fasern mit durchweg dickeren und dunkler gefärbten Fibrillen. Die Fibrillen sind gleichmäßig über den Querschnitt verteilt. Nur in wenigen Fasern finden sich geringfügige Fibrilleneinanderlagerungen in Form kurzer Ketten, jedoch nie Bänderbildungen. Insgesamt liegt das Bild einer Fibrillenstruktur mit isoliert stehenden, ziemlich einheitlich aussehenden Einzelfibrillen und gleichmäßigen Sarkoplasmazwischenräumen vor. Diese Feinstruktur ist regelmäßiger und reiner als in Serie A, was zusammen mit den etwas breiteren Sarkoplasmaanteilen zu einem helleren, lockeren Bild geführt hat.

Serie F (6-Std. -Susa-Celloidin - s. Abb. 6 -): Die Fasern bilden ein ebenso dichtes Mosaik wie in E. Ihre Sarkolemmmembranen sind ebenfalls nicht scharf ausgebildet, weshalb die Grenzen nicht immer deutlich erkennbar sind. COHNHEIMsche Felder und Risse sind in noch geringerem Ausmaß vorhanden als in Serie E. Die Fibrillen haben auch hier oft eine verschiedene Dicke und verschiedene Querschnittsformen, sind aber durchweg sehr zart ausgebildet. Auf den Querschnitten sind sie völlig gleichmäßig, nur wesentlich dichter als in E verteilt, so daß das reine Bild einer Fibrillenstruktur vorliegt. Nur in wenigen Fasern finden sich Andeutungen von Ketten- und Bogenbildungen, die sich aber immer in Einzelfibrillen auflösen lassen. Insgesamt ist das Bild der Fibril-

lenanordnung kompakter als in E, aber lockerer als in B, nur mit etwas größeren Dicken- und Formunterschieden der Fibrillen.

Serie G (6-Std. -Formol-Paraffin - s. Abb. 7 -): Die durchweg polygonalen Faserquerschnitte liegen mosaikartig dicht nebeneinander und haben meist unscharfe Begrenzungen. Manche Fasern sind auch ganz aufgelöst und zerrissen. Es treten mehr COHNHEIMsche Felder und Risse mit Lückenbildungen auf als in Serie E. Auch sind die Fibrillen gröber ausgebildet, mit stärkeren Unterschieden in ihrer Dicke und Querschnittsform. Sie sind auch dicker als in C. Auf den Querschnitten sind sie gleichmäßig verteilt, allerdings mit breiteren interfibrillären Räumen, in denen nicht immer mit Sicherheit Sarkoplasma nachzuweisen ist. Nur in einzelnen Fasern finden sich neben den Einzelfibrillen ganz kurze und plumpe Bänder. Insgesamt ist die Struktur grober als in C und E und weitaus wirrer in der Anordnung, was ein sehr unruhiges Bild zur Folge hat. Nur finden sich hier keine so wesentlichen Aneinanderlagerungen.

Serie H (6-Std. -Formol-Celloidin - s. Abb. 8 -): Die Faserquerschnitte bilden auch hier ein dichtes Mosaik kleiner Polygone. Die Fibrillen sind teils ebenso dick wie in G, teils auch feiner, aber wesentlich dichter gepackt, stellenweise kaum differenzierbar, so daß manchmal größere Komplexe imponieren. Soweit deutlich erkennbar, sind die Fibrillen aber gleichmäßig über die Querschnitte verteilt und nicht ganz so wirr angeordnet wie in G. COHNHEIMsche Felder sind geringgradiger ausgebildet als in G, aber stärker als in F. Insgesamt ist das Bild "schlechter" als in F.

III. Das Verhalten der Fibrillendichte

Man erkennt bei der mikroskopischen Betrachtung der verschiedenen Reihen also deutlich, daß auch die Feinstruktur der Muskelfasern je nach dem angewandten Arbeitsverfahren die mannigfachsten Veränderungen erleidet. Diese machen sich vor allem an der Verteilung der fibrillären Substanz und dem interfibrillären Sarkoplasma bemerkbar, ebenso deutlich ist aber auch ein Einfluß auf die Querschnittsform und Dicke der Fibrillen. Wegen der Vielgestaltigkeit der Fibrillenquerschnitte war diesen oft kein eindeutiger Durchmesser beizuordnen, weshalb auf eine Dickenbestimmung verzichtet wurde. Stattdessen wurde die mittlere Fibrillendichte in den einzelnen Reihen ermittelt. Dieses Maß, das angibt, wieviel Fibrillen auf die Flächeneinheit entfallen, mußte sich bei unbeeinträchtigter Feinstruktur umgekehrt proportional zur

Querschnittsgröße verhalten. D. h. sind die Querschnitte bei einer bestimmten Behandlung kleiner geworden als vorher, so müßte die Fibrillendichte im selben Grade zugenommen haben, da dieselbe Anzahl Fibrillen nun auf einem kleineren Raum zusammengedrängt ist. Sie vermag somit also einen gewissen Einblick in das Verhalten der Feinstruktur zu geben und kann mit zu deren objektiver Erfassung beitragen.

Bestimmt wurde die Fibrillendichte in 50 Fasern jeder Serie durch Auszählen der Fibrillen, die jeweils auf ein bestimmtes Feld einer Okularblende entfielen. Eine derartige Messung war jedoch nur in solchen Fasern und an den Querschnittsstellen vorzunehmen, die keinerlei Verklumpungen, Kettenbildungen o. ä., sondern immer nur einzelstehende Fibrillen aufwiesen. Somit können diese Resultate also keine sicheren Aussagen über das Verhalten der Fibrillendichte in einer gesamten Reihe machen, sondern geben nur Aufschluß über die Veränderungen der Fibrillendichte in den Fasern jeder Reihe, die die Voraussetzungen einer reinen Fibrillenstruktur erfüllen.

Um einen einfachen Überblick über das Verhalten der Fibrillendichte in den einzelnen Serien zu bekommen, wurde außer den Meßwerten noch die auf Grund der Querschnittsgröße zu erwartende "theoretische Fibrillendichte" angegeben. Diese wurde als das Produkt der höchsten vorkommenden Fibrillenzahl pro Meßfläche (= 27) und dem jeweiligen Faktor f errechnet, der angibt, wievielmals größer der höchste mittlere Faserquerschnittswert (Serie B) ist als der der betreffenden Serie. Die wirklich gemessene Fibrillendichte wurde dann in Prozent dieses theoretischen Wertes ausgedrückt. Damit ergab sich folgende Zusammenstellung:

- Tab. IX -

Hiernach nimmt die Fibrillendichte also keineswegs in demselben Maße wie die Schrumpfung zu - wie theoretisch zu erwarten gewesen wäre - sondern bleibt relativ etwa gleich, mit nur minimalen Schwankungen in den einzelnen Serien. Dieses Verhalten kommt besonders deutlich in einer graphischen Gegenüberstellung der wirklichen und der theoretischen Fibrillendichte zum Ausdruck:

- Tab. X -

Über die geringen Abweichungen der Fibrillendichte in Abhängigkeit von der Behandlung vermag ebenfalls eine graphische Darstellung am besten Aufschluß zu geben. Hierzu wurden die einander entsprechenden Paraffin- und Celloidinwerte ineinander gezeichnet:

- Tab. XI -

Es zeigt sich hierbei insgesamt, daß auch die Fibrillendichte in einem gewissen Grade von den histotechnischen Maßnahmen mitbestimmt wird: Im Celloidin finden sich nämlich immer etwas mehr Fibrillen auf derselben Fläche als im Paraffin. Ebenso sind diese Werte nach 1 Std. höher als bei den entsprechenden Fasern nach 6 Std. In ähnlicher Weise besteht auch eine größere Fibrillendichte bei den susafixierten Präparaten gegenüber den formolfixierten, die eine lockerere Fibrillenordnung aufweisen.

Trotz der eingeschränkten Deutungsmöglichkeit dieser Werte (wegen der getroffenen Auswahl - s. oben -) kommt eindeutig zum Ausdruck, daß auch die Feinstruktur durch die verschiedenartige Verarbeitung des Materials beträchtlich verändert wurde, zumal wenn man berücksichtigt, daß diese Daten von jenen Fasern der verschiedenen Serien herrühren, die keine gröberen Veränderungen ihres Querschnittsbildes aufweisen, sondern immer reine Fibrillenstruktur zeigen.

Im übrigen ist aber zur richtigen Deutung all dieser Einzelbeobachtungen erforderlich, daß sie nur unter Berücksichtigung aller anderen Erscheinungen erfolgt, weil den einzelnen Abweichungen nur im Gesamtzusammenhang eine sinnvolle Bedeutung beizumessen ist.

F. ZUSAMMENFASSENDE BETRACHTUNG

Überblickt man nun die verschiedenen Einzelfeststellungen über die Veränderungen der Muskelstrukturen in Abhängigkeit von der geschilderten unterschiedlichen Behandlung, so erhält man folgendes Bild über die Wirkungsweise der untersuchten Faktoren:

Von maßgeblichstem Einfluß auf die Gestaltung des histologischen Muskelbildes ist zweifelsohne der Zeitpunkt der Fixation. Es bestehen nämlich zwischen den nach 1 Std. und den nach 6 Std. fixierten Fasern die größten überhaupt vorkommenden Unterschiede, sowohl in der mittleren Faserquerschnittsgröße als auch in dem Verhalten der Feinstruktur. Bei der Fixation nach 6 Std. findet sich nicht nur eine Abnahme der Faserdicke auf etwa die Hälfte jener, die man bei der Fixation nach 1 Std. erhält, verbunden mit beträchtlichen Formveränderungen der Querschnitte in Gestalt gegenseitiger Abplattungen, sondern es resultiert gleichzeitig noch - wie aus der Zunahme des PEARSONschen Variabilitätskoeffizienten hervorgeht - eine größere Variationsbreite des Faserspektrums. Daneben zeigen sich einige beachtliche Unterschiede in

der Auswirkung dieses Zeitfaktors auf die Gestaltung der Feinstruktur: So ist nach 6 Std. die Fibrillendichte deutlich kleiner geworden, was wegen der gleichzeitigen Verringerung der mittleren Faserquerschnittsgröße eine Abnahme der absoluten Fibrillenanzahl bedeutet. Diese stärkere Ballung der fibrillären Elemente hat teilweise auch eine Zunahme der Fibrillendicke zur Folge, jedoch läßt sich hierbei keine durchgehende Parallelität finden. Die Querschnittsform und das Kaliber der Fibrillen variieren nach 6 Std. geringfügiger untereinander als nach 1 Std., weshalb bei der späteren Fixierung ein etwas uniformeres Fibrillenbild erhalten wird, das gleichzeitig auch deutlich weniger durch Reißbildungen und COHNHEIMsche Felder beeinträchtigt wird. Die Anordnung der Fibrillen auf dem Querschnitt entspricht im allgemeinen zwar dem Bild einer Fibrillenstruktur, jedoch bestehen bei den 1-Std.-Präparaten in wechselndem Ausmaß Zusammenlagerungen von Fibrillen zu Ketten und Polygonen, ja in manchen Fasern liegen sogar verschieden lange Bandformen vor, die teils reihenweise, teils ineinander verschlungen angeordnet sind, teils auch mit den meist im selben Querschnitt gleichzeitig vorhandenen Einzelfibrillen und Fibrillenkomplexen ein wirres Durcheinander bilden. Solche Erscheinungen vermißt man bei den 6 $\frac{1}{2}$ Std.-Präparaten fast vollständig. Bei ihnen bestehen zwar auch auffällige Unterschiede in der Fibrillenform, jedoch kommen nur geringfügige Kettenbildungen vor, während man Bandformen praktisch überhaupt nicht findet.

Diese Unterschiede in der Ausprägung der Muskelstruktur bei verschiedenem Fixationszeitpunkt sind wohl auf die postmortal eintretenden Zersetzungs Vorgänge zurückzuführen, in deren Verlauf die Muskelfaser (infolge chemischer Umsetzungen) relativ wasserreicher werden, außerdem auch an Permeabilität zunehmen, so daß sie bei der späteren Fixation einen größeren Substanzverlust erleiden als bei der frühzeitigen. Hieraus resultiert dann ein geringeres Faservolumen, wobei die Feinstruktur gleichzeitig einheitlicher und regelmäßiger gestaltet wird, wie dies auch WILKES in ähnlicher Weise beschrieben hat. Aus dem Vorkommen von Fibrillenzusammenlagerungen in Form von Ketten, Polygonen sowie Bandformen bei den nach 1 Std. fixierten Präparaten und dem fast völligen Fehlen dieser Erscheinungen bei der Fixation nach 6 Std. kann man entnehmen, daß die von KRÜGER und GÜNTHER beschriebenen Unterschiede zwischen fibrillen- und felderstrukturierten Fasern nur bei möglichst frühzeitiger Fixation zur Ausbildung kommen, während später nur noch das Bild einer Fibrillenstruktur zu erhalten ist.

Als nächst bedeutendster Faktor für die Ausprägung des histologischen Querschnittsbildes der quergestreiften Muskulatur erwies sich die Art des Fixations-

mittels. Die mittlere Fasergröße fällt nämlich bei der Formolfixierung durchweg erheblich geringer aus und zeigt ausgedehntere Formdeformierungen als bei entsprechender Susafixation. Das größere Ausmaß der Volumenveränderungen beim Formol wird noch besonders augenscheinlich, wenn man berücksichtigt, daß das Formol primär ja sogar Quellungen des Material verursacht (s. oben), trotzdem aber im Endeffekt zu noch kleineren Faserquerschnitten führt als Susa. Danach kann man bereits vermuten, daß auch die Feinstruktur im Formol größere Beeinträchtigung erfährt als in Susa. In der Tat sind die Fasern in formolfixierten Schnitten in weitaus stärkerem Maße durch Risse geschädigt als dies bei den susafixierten der Fall ist, auch weisen sie erheblich zahlreichere und stärker ausgeprägte COHNHEIMsche Felderungen auf. Die Fibrillendichte ist bei den Formolpräparaten stets niedriger, die Fibrillendicke entsprechend meist höher als bei den Susaschnitten. Außerdem bewirkt Formol viel unregelmäßigere und gröbere Fibrillenquerschnittsformen. Daraus ist zu entnehmen, daß Formol die Verschmelzung fibrillärer Elemente zu höheren Einheiten mehr begünstigt als Susa. Dies zeigt sich auch in dem bevorzugten Auftreten von Fibrillenzusammenlagerungen in den Formolpräparaten, was zu Polygonen-, Ketten- und Bänderbildungen geführt hat, die mit unterschiedlich dicken Einzelfibrillen gemischt in völlig unregelmäßiger Anordnung nebeneinander liegen und ein weitaus unruhigeres Bild bewirken als man es je bei den Susapräparaten finden kann.

Wie die bei den formolfixierten Fasern in jedem Falle geringere Querschnittsgröße der Muskelfasern und ihre immer grober und unregelmäßiger ausgebildete Feinstruktur mit ihren zahlreichen Rissen und Verklumpungen beweist, ist das Formol ein deutlich weniger stabilisierendes Fixationsmittel als Susa und damit für die Muskelfixation unter allen Umständen weniger gut geeignet.

Demgegenüber kommt dem Einfluß des Einbettungsmittels auf die Gestaltung der Muskelstrukturen eine relativ untergeordnete Bedeutung zu. Es werden hierdurch zwar auch einige ganz charakteristische Effekte hervorgerufen, aber doch nur in einem durch die vielfältigen, vorher erfolgten histotechnischen Maßnahmen ziemlich eingeschränkten Ausmaß. Während die Faserquerschnittsgrößen nur geringfügig durch die Einbettung beeinflusst werden - indem sie bei susafixierten Fasern in Celloidin, bei formolfixierten Fasern in Paraffin weniger schrumpfen und insgesamt im Paraffin eine geringere Streubreite besitzen - weist die Feinstruktur einige wesentlichere Abhängigkeiten auf. Am auffälligsten ist das fast völlige Fehlen (zumindest die starke Abschwächung) von groben Verschiebungen, Rissen sowie von COHNHEIMschen Feldern in den celloidineingebetteten Fasern, während diese Erscheinungen im Paraffin

in hohem Maße ausgeprägt sind. Auch bewirkt das Celloidin eine weitaus dichtere Anordnung der Fibrillen, die hier auch durchweg feiner und regelmäßiger ausgebildet sind als im Paraffin. Ebenso sind alle Formen der Fibrillenaneinanderlagerungen im Celloidin in der Regel geringgradiger, Bänder können kaum mit Sicherheit nachgewiesen werden, die übrigen Komplexe sind meist gut differenzierbar.

Hiernach scheint das Celloidin die Muskelfasern mit all ihren Strukturen besser zu bewahren als Paraffin, zumindest aber führt es nicht zu jenen groben Störungen im histologischen Bild, wie sie die paraffineingebetteten Schnitte - wohl infolge der Wärmeeinwirkung (s.oben) - regelmäßig, wenn auch in Abhängigkeit von der übrigen Behandlung in etwas wechselndem Ausmaß, aufweisen.

Zusammenfassend lassen sich nun also folgende Aussagen über die Abhängigkeit des histologischen Muskelbildes von den Unterschieden im Fixationszeitpunkt, im Fixierungs- und im Einbettungsmittel machen:

Die Größe der Muskelfaserquerschnitte ist weitgehend abhängig vom Zeitpunkt der Fixation, dem Fixierungsmittel und in geringerem Maße vom Einbettungsmittel: Bei Fixation nach 6 Std. nimmt sie auf etwa die Hälfte der Fläche ab, die man bei Fixation nach 1 Std. erhält. Etwas geringere Schrumpfungsdifferenzen bestehen zwischen den formol- und den susafixierten Fasern, wobei sich Formol aber immer in stärkerem Maße schrumpfend erweist als Susa. Das Einbettungsmittel spielt in diesem Zusammenhang nur eine unterstützende Rolle, indem durch Celloidin die geringeren Schrumpfungen im Susa noch weiter abgemildert, dagegen die formolbedingten Schrumpfungen noch weiter verstärkt werden. Paraffin hat praktisch den entgegengesetzten Effekt. Mit den bei solch unterschiedlicher Behandlung resultierenden Schrumpfungen sind gleichzeitig noch erhebliche Formveränderungen verknüpft, insofern als sich die ursprünglich ovalen Faserquerschnitte bei zunehmender Schrumpfung immer mehr polygonal deformieren. Außerdem findet sich dabei noch eine wechselnde relative Streubreite der Faserquerschnitte, woraus hervorgeht, daß die Schrumpfungen nicht alle Fasern im gleichen Maße betreffen, daß man deshalb also bei verschiedener Behandlung auch eine verschiedenartige Zusammensetzung des Faserspektrums bekommt.

Diese Variationen in der Faserquerschnittsgröße bei nur relativ geringfügigen Abwandlungen in der histotechnischen Verarbeitungsweise lassen die vielfach differierenden Angaben hierüber (s.oben) in gewissem Sinne verständlich er-

scheinen, da ja nicht alle Untersucher ihr Material unter genau denselben Bedingungen verarbeitet haben. Von besonderer Bedeutung ist dies noch bei der Beurteilung von absoluten Faserquerschnittsgrößen, wie allein aus der Tatsache hervorgeht, daß die mittlere Muskelfaserquerschnittsfläche am selben Material bei der hier geschilderten unterschiedlichen Behandlung zwischen 3.100 und 890 μm^2 variierte. Deshalb muß zumindest gefordert werden, daß vergleichende und absolute Messungen an quergestreiften Muskelfasern immer unter denselben Voraussetzungen vorgenommen werden und daß allen diesbezüglichen Mitteilungen immer möglichst genaue Angaben über die technische Verarbeitung beigelegt werden.

Außerdem weist auch die Feinstruktur der quergestreiften Muskelfasern eine weitgehende Abhängigkeit von denselben histotechnischen Faktoren auf. Dies zeigt sich allein schon am Verhalten der Fibrillendichte: Wie aus dem Vergleich zwischen wirklicher und theoretischer Fibrillendichte hervorgeht (Tab. X), schwankt die Fibrillenzahl pro Meßfläche nur unbedeutend, obwohl sie wegen der Faserschrumpfungen erheblich zunehmen müßte. Hieraus läßt sich der Schluß ziehen, daß die bei der Verringerung der Faserquerschnitte erzielte gegenseitige Annäherung der fibrillären Elemente, wenn sie einen gewissen Grad erreicht hat, zu deren fortwährender Verschmelzung zu höheren Einheiten führt. Dadurch kommt es einerseits zwar zu einer Abnahme der absoluten Fibrillenmenge, andererseits aber bleibt die Fibrillenanzahl pro Flächeneinheit fast gleich, mit nur geringfügigen Schwankungen je nach der Materialbehandlung, indem z. B. Paraffin ebenso wie Formol und wie Fixation zu einem späteren Zeitpunkt einen etwas höheren Grad der Fibrillenverschmelzung bewirken als Celloidin, Susa und frühzeitigere Fixation. Aus diesem Verhalten der fibrillären Elemente kann man jedoch nicht ohne weiteres einen Rückschluß auf die Dicke der einzelnen Fibrillen ziehen, wie auf Grund der Überlegung, daß bei zunehmender Verschmelzung die Fibrillendicke zunehmen müßte, anzunehmen wäre. Denn hierbei ist nicht die Tatsache berücksichtigt, daß dieselbe Noxe, die eine derartige Verschmelzung herbeiführt, auch den Durchmesser dieser einzelnen Elemente bis zu einem gewissen Grade verändern kann.

Die verschiedenartige Behandlung hatte weiterhin beachtliche Unterschiede in der Fibrillenordnung auf dem Faserquerschnitt zur Folge. Bei Fasern, die in Formol fixiert sind, kann man nämlich eine wesentlich stärkere Fibrillen-gruppierung in Form COHNHEIMscher Felder beobachten, während diese in der Susareihe fast vollständig vermißt werden. Besonders begünstigend für die Ausbildung solcher Felderungen wirkt auch noch die Paraffineinbettung, in

der darüber hinaus die stärksten Zerstörungen der histologischen Strukturen überhaupt, sei es durch Risse oder durch Verklumpung etc., zu finden sind. Auch die Zusammenlagerung von Fibrillen zu Ketten, polygonalen Komplexen und Bändern weist deutliche Abhängigkeiten von der technischen Methodik auf. Obwohl diese Erscheinung insgesamt nicht sehr stark ausgeprägt sind, läßt sich doch ihr bevorzugtes Auftreten in den nach 1 Std. fixierten Schnitten deutlich erkennen. Dies ist vor allem bei den formolfixierten Präparaten der Fall, besonders wenn sie in Paraffin eingebettet sind. Aber auch bei den Susappräparaten und in der Celloidineinbettung sind sie (allerdings in weitaus geringerem Ausmaß) nachzuweisen.

Aus der Beobachtung, daß je nach der Behandlung in wechselndem Ausmaß eine unterschiedliche Menge von Fasern mit reiner Fibrillenstruktur neben anderen mit verschieden starken Fibrillenaneinanderlagerungen (bis zur Bildung feiner Bänder) vorkommen und gleichzeitig beträchtliche Unterschiede in der Dicke und Querschnittsform der Fibrillen in den verschiedenen Serien und auch in wechselnder Weise innerhalb der einzelnen Fasern bestehen können, muß geschlossen werden, daß auch die Art der Anordnung und Gestaltung der kontraktilen Substanz auf dem Faserquerschnitt in nicht zu vernachlässigendem Maße von der Art der histotechnischen Materialverarbeitung abhängig ist, ebenso wie dies bereits für die Größe und Gestalt der Faserquerschnitte aufgezeigt worden ist.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Ambrosius, H., Über die Genauigkeit und zeitliche Rentabilität von Zellkern-Meßmethoden. *Mikroskopie* 8, 95, 1953
- 2) Ambrosius, H., Über einige bei der histologischen Fixation wirkende Faktoren. *Mikroskopie* 9, 372, 1954
- 3) Apáthy, St., Die Mikrotechnik der thierischen Morphologie. Braunschweig 1896-1901
- 4) Barer, R., The structure of the striated muscle fibre. *Biol. Rev.* 23, 159, 1948
- 5) Bargmann, W., Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Stuttgart 1956
- 6) Bělař, K., Über die Naturtreue des fixierten Präparates. *Z. indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre Suppl.* 1, 402, 1928
- 7) Bennett, H. St., Some characteristics of the myofibrils and myofilaments of striated skeletal muscle. *Anat. Rec.* 103, 423, 1949
- 8) Bennett, H. St. and K. R. Porter, An electron microscope study of sectioned breast muscle of the domestic fowl. *Am. J. Anat.* 93, 61, 1953
- 9) Berg, W., Beiträge zur Theorie der Fixation mit besonderer Berücksichtigung des Zellkerns und seiner Eiweißkörper. *Arch. mikr. Anat.* 62, 367, 1903
- 10) Berg, W., Weitere Beiträge zur Theorie der histologischen Fixation. (Versuche an nucleinsaurem Protamin). *Arch. mikr. Anat.* 65, 298, 1905
- 11) Berg, W., Veränderungen des Volumens und des Gewichtes des Gewebes bei der histologischen Fixation, dem Auswässern, der Härtung und der Paraffineinbettung. *Anat. Anz.* 31, 252, 1907
- 12) Berg, W., Die Fehlergröße bei den histologischen Methoden. Berlin 1908
- 13) Bloom, G. and U. Friberg, Shrinkage during fixation and embedding of histological specimens. *Acta morphol. Neerl.-Scand.* 1/1, 12, 1956
- 14) Blum, F., Der Formaldehyd als Härtungsmittel. *Z. f. Mikr.* 10, 314, 1893

- 15) Blum, F., Notiz über die Anwendung des Formaldehyds (Formol) als Härtungs- und Conservierungsmittel. Anat. Anz. 9, 229, 1894
- 16) Blum, F., Über Wesen und Wert der Formolhärtung. Anat. Anz. 11, 718, 1896
- 17) Böhm-v. Davidoff, Lehrbuch der Histologie des Menschen. Wiesbaden 1898
- 18) Boerner-Patzelt, Vergleichend-histologische Studien über quergestreifte Muskulatur. Z. mikr.-anat. Forsch. 18, 93, 1929
- 19) Bolles-Lee, The Microtometist's Vademecum. London 1896 (zit. n. Sjöbring)
- 20) Bowman, W., On the minute structure and movements of voluntary muscle. Philos. Trans. II, 457, 1840 (zit. n. Häggquist 1931)
- 21) Brecht, K. und H. Feneis, Über tonische und phasische Reaktionen einzelner quergestreifter Muskelfasern und des Ganzmuskels. Z. Biol. 103, 355, 1950
- 22) Cameron, M. L., Differences of structure between the white and red muscles of the rabbit. J. of Physiol. 67, 39, 1929
- 23) Carey, E. J. and W. Zeit, Studies in the wave-mechanics of muscle form and function. VI. The areas of Cohnheim are transverse sections of the cross-striations of the striated muscle fibre. Anat. Rec. 64, 343, 1936
- 24) Carleton, H. M., Note on the comparative effects on tissues of isotonic saline and distilled water, when used as solvents for mercuric chloride and formol in histological fixation. Quart. J. microsc. science 66, 1922
- 25) Carleton, H. M., A propos de l'emploi du formol dans la fixation. Bull. d'histol. 3, 122, 1926 (zit. n. Ambrosius 1954)
- 26) Cohnheim, Über den feineren Bau der quergestreiften Muskelfaser. Virchow's Arch. path. Anat. 34, 606, 1865
- 27) Danzinger, F., Über Fasern mit Säulchen- und Fibrillenfelderung in den Muskeln einiger Säugetiere. Z. Zellforsch. 25, 316, 1937
- 28) Draper, M. H. and A. J. Hodge, Submicroscopic localization of minerals in skeletal muscle by internal "microincineration" within the electron microscope. Nature 163, 576, 1949
- 29) Dufrenoy, J. and H. S. Reed, The choice of killing fluids appropriate for cytological research. Science 81, 273, 1935

- 30) v. Ebner, V., Über den feineren Bau der Flügelmuskelfasern der Insekten. Wien. Akad. Anz. 55, 108, 1918
- 31) Elschmig, A., Zur Technik der Celloidineinbettung. Z. wiss. Mikr. 10, 443, 1893
- 32) Enderlin, M., Phasenmikroskopische Untersuchungen über Umgebungseinwirkungen auf die quergestreiften Muskelfasern. Acta Anat. 17, 1, 1953
- 33) Fischer, A., Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. Anat. Anz. 9, 678, 1894
- 34) Fischer, A., Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899
- 35) Flatau, E., Beitrag zur technischen Bearbeitung des Centralnervensystems. Anat. Anz. 13, 323, 1897
- 36) Flemming, W., Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882
- 37) Flemming, W., Morphologie der Zelle und ihrer Teilungserscheinungen. Erg. Anat. und Entw. gesch. 3, 24, 1893/94
- 38) Frey-Wyssling, A., Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. N. Y. 1948
- 39) Frick, H., Berechtigt die Anordnung der Myofibrillen in den Muskelfasern der Säuger zur Annahme eines morphologischen Dualismus (Krüger)? Z. Anat. und Entw. gesch. 117, 485, 1954
- 40) Füllinger, F., Über einen Zusammenhang zwischen Struktur und Form von Skelettmuskeln bei *Rana temporaria*. Zool. Anz. 90, 325, 1930
- 41) Graf, W., Quantitativ-histologische Analyse von roter und weißer Muskulatur beim Kaninchen. Anat. Anz. 95, 107, 1944/45
- 42) Gross, W. und H. Lohaus, Untersuchungen über die Wirkung von Härtungsflüssigkeiten auf tierische Gewebe. Z. wiss. Mikr. 49, 168, 1932
- 43) Günther, P. G., Über das Vorkommen von tetanischen und tonischen Fasern in der quergestreiften Skelettmuskulatur des Menschen. Z. Naturforsch. 5b, 386, 1950
- 44) Günther, P. G., Die morphologischen Grundlagen der Bewegungs- und Halteleistung (Tetanus und Tonus) des Zwerchfells. Acta Anat. 14, 54, 1952

- 45) Günther, P. G., Das muskuläre Substrat der Bewegungs- und Halteleistung des menschlichen Zwerchfells. Acta Anat. 17, 348, 1953
- 46) Günther, P. G., Das tetanische und tonische Aktionssubstrat des Zwerchfells (Grundlage zur Pathophysiologie und Klinik der Atemstörungen). Ärztl. Forsch. 8, 217, 1954
- 47) Günther, P. G. und P. Krüger, Über artspezifische Besonderheiten der Fasern mit "Felderstruktur" in der quergestreiften Skelettmuskulatur von wilden und domestizierten Ratten. Z. Anat. u. Entw. gesch. 119, 1, 1955
- 48) Guthertz, S., Zur Histologie der quergestreiften Muskelfaser, insbesondere über deren Querschnittsbild bei der Kontraktion. Arch. mikr. Anat. 75, 209, 1910
- 49) Häggquist, G., Gewebe und Systeme der Muskulatur. Handb. mikr. Anat. von v. Möllendorff II/3, 1931
- 50) Häggquist, G., Verhandl. Anat. Ges. 49, 65, 1951
- 51) Häggquist, G., Gewebe und Systeme der Muskulatur. Handb. mikr. Anat. von v. Möllendorff II/4, 1956
- 52) Hall, C. E., Jakus, M. A. and F. O. Schmitt, An investigation of cross striations and myosin filaments in muscle. Biol. Bull. 90, 32, 1946
- 53) Ham, A. W., Histology. Philadelphia 1950
- 54) Hamacher, G., Die Entwicklung der Fasern mit "Säulchenfelderung" im Kaulquappenmuskel. Zool. Anz. 108, 155, 1934
- 55) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. III, Wiesbaden 1904
- 56) Hardy, W. B., On the structure of cell protoplasm. J. Physiol. 24, 158, 1899
- 57) Haselmann, H., Beiträge zur Phasenkontrastmikroskopie. 3. Mitteilung: Eine Methode zur mikrokinematographischen Analyse des histologischen Fixationsvorganges. Mikroskopie 6, 83, 1951
- 58) Heidenhain, M., Die Trichloressigsäure als Fixationsmittel. Z. wiss. Mikr. 22, 321, 1905
- 59) Heidenhain, M., Plasma und Zelle. Handb. Anat. d. Menschen von v. Bardeleben VIII/2, 1911

- 60) Heidenhain, M., Über neuere Sublimatgemische. Z.wiss.Mikr. 33, 232, 1916
- 61) Hertwig, G., Der Einfluß der Fixierung auf das Kern- und Zellvolumen. Z. mikr.-anat.Forsch. 23, 484, 1931
- 62) Höncke, P., Investigations on the structure and function of living, isolated, cross striated muscle fibres of mammals. Århus 1947
- 63) Hoffmann-Berling, H. und G.A.Kausche, Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Feinbau der Skelettmuskulatur bei *Rana temporaria*. Z.Naturforsch. 5b, 139, 1950
- 64) Holmgren, E., Untersuchungen über die morphologisch nachweisbaren stofflichen Umsetzungen der quergestreiften Muskelfasern. Arch.mikr. Anat. 75, 240, 1910
- 65) Hopf, G., Größenunterschiede der Muskelfaserquerschnitte zwischen den einzelnen Portionen des M.masseter beim Menschen und einigen Säugetieren. Jahrb.Morphol.u.mikr. Anat. Abt.2, 35, 195, 1934
- 66) Hoyer, H., Verhandl. Anat.Ges. 1896 (zit.n. Sjöbring)
- 67) Huxley, H.E., Electron microscope studies of the organisation of the filaments in striated muscle. Biochim. et Biophys. Acta 12, 387, 1953
- 68) Kaiserling, K. und R.Germer, Über den Einfluß der gebräuchlichsten Conservierungs- und Fixationsmethoden auf die Größenverhältnisse thierischer Zellen. Virchows Arch. 133, 79, 1893.
- 69) Knoll, Ph., Über helle und trübe, weisse und rothe quergestreifte Muskulatur. Sitzgber.K.Akad.Wiss.Math.-nat.Classe Abt.III, 98, 456, 1889
- 70) Knoll, Ph., Über protoplasmaarme und protoplasmareiche Muskulatur. Denkschr.d.k.Akad.d.Wiss.z. Wien 58, 633, 1891
- 71) Knoll, W. und E.Barkley, Über funktionell bedingte Muskelstrukturen. Z. mikr.-anat.Forsch. 49, 108, 1941
- 72) Koch, L., Mikrotechnische Mitteilungen. I. Über Einbettung, Einschluß und Färben pflanzlicher Objekte. Z.wiss.Mikr. 10, 119, 1893
- 73) Köhler, H., Histologische Untersuchungen an Skelettmuskeln von Reptilien. Z. Zellforsch. 28, 597, 1938

- 74) Kölliker, A., Mikroskopische Anatomie oder Gewebelehre des Menschen. Bd. II/1. Leipzig 1850
- 75) Kölliker, A., Über die Cohnheimschen Felder der Muskelquerschnitte. Z. wiss. Zool. 16, 375, 1866
- 76) Kölliker, A., Zur Kenntnis der quergestreiften Muskelfasern. Z. wiss. Zool. 47, 689, 1888
- 77) Krüger, P., Über das Vorkommen von zweierlei Fasern in der Muskulatur von Haien. Z. Naturforsch. 5b, 218, 1950
- 78) Krüger, P., Über Fasern mit Fibrillenstruktur und Fasern mit Felderstruktur in den quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen. Verhandl. Anat. Ges. 49, 65, 1951
- 79) Krüger, P., Über die Grundlagen der "tonischen und phasischen Reaktionen" der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere. (Eine Entgegnung). Z. Biol. 104, 221, 1951
- 80) Krüger, P., Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen. Leipzig 1952
- 81) Krüger, P., Über den Zusammenhang von Struktur und Funktion bei Säugetiermuskeln. (Eine Entgegnung). Anat. Anz. 104, 193, 1957
- 82) Krüger, P., F. Duspiva und F. Füllinger, Tetanus und Tonus der Skelettmuskeln des Frosches, eine histologische, reizphysiologische und chemische Untersuchung. Pflügers Arch. ges. Physiol. 231, 750, 1933
- 83) Krüger, P. und P. G. Günther, Fasern mit "Fibrillenstruktur" und Fasern mit "Felderstruktur" in der quergestreiften Skelettmuskulatur der Säuger und des Menschen. Z. Anat. u. Entw. gesch. 118, 313, 1955
- 84) Kuschinsky, G., H. Lüllmann, W. Hoefke und E. Muscholl, Über das Verhalten der Myofibrillen und die Funktion von Rattenmuskeln. Anat. Anz. 103, 116, 1956
- 85) Kuschinsky, G., H. Lüllmann, W. Hoefke und E. Muscholl, Bemerkung zu "Über den Zusammenhang von Struktur und Funktion bei Säugetiermuskeln (Eine Entgegnung)" von P. Krüger. Anat. Anz. 104, 199, 1957
- 86) Lagerlöf, H. und T. Torgersrud, Zur Kenntnis der Gewichts- und Volumenveränderungen bei Formalinfixation von Gehirngewebe und der Einwirkung von NaCl-Zusatz darauf. J. Psychol. u. Neurol. 46, 178, 1934

- 87) Langer, G., A proposito di fissazione delle fibre muscolari striate. *Mon.zool.ital.* 47, 325, 1936
- 88) Lassek, A. M. and M. M. Powers, Concentrated formalin versus a 10% solution as a fixative preceding silver staining. *Stain Technol.* 24, 33, 1949 (zit.n. Ambrosius 1954)
- 89) Laves, W., Über die Totenstarre. *Dtsch.Z.gerichtl.Med.* 39, 186, 1948/49
- 90) Leplat, G., De la fixation de tissus fortement imbibés. *Bull.Assoc. Anatomistes* 1934, S. 360 (zit.n. Ambrosius 1954)
- 91) Lewis, W. H. and M. R., 1917 (zit.n. Barer)
- 92) Lundegardh, H., Fixierung, Färbung und Nomenklatur der Kernstrukturen. *Arch.mikr. Anat.u.Entw.gesch.* 80, 223, 1912
- 93) Mann, G., *Physiological Histology. Methods and Theory.* Oxford 1902
- 94) Martin, H., *Arch.Physiol.Path.* 2, 9, 1882 (zit.n. Enderlin)
- 95) Mayeda, R., Über die Kaliberverhältnisse der quergestreiften Muskelfasern. *Z.Biol.* 27, N.F. 9, 119, 1890
- 96) McClung, C. E., *Handbook of Microscopical Technique*, N. Y. 1939
- 97) Meyer, K. H. und H. Mark, *Aufbau hochpolymerer organischer Naturstoffe.* Leipzig 1930
- 98) Nel, J. T., Histologische und anatomische Untersuchungen an der Hinterextremität einiger Vögel. *Verh.naturhist.Ver. Heidelberg* 18, 223, 1940
- 99) Patten, B. M. and Philpott, R., The shrinkage of embryos in the processes preparatory to sectioning. *Anat.Rec.* 20, 393, 1921
- 100) Pease, D. and F. Baker, The fine structure of mammalian skeletal muscle. *Amer.J.Anat.* 84, 175, 1949
- 101) Policard, A., L'emploi du formol isotonique dans la fixation histologique. *Bull. d'histol.* 3, 60, 1926 (zit.n. Ambrosius 1954)
- 102) Reichardt, Über "Hirnschwellung". *Z.Neurol., Erg.u.Ref.* 3, 1, 1911
- 103) Ries, E. und M. Gersch, Gibt das fixierte Präparat ein Äquivalentbild der lebenden Zelle? *Z.Zellforsch.* 25, 14, 1936

- 104) Rollett, A., Beiträge zur Physiologie der Muskeln. Denkschr.d.math. - nat. Kl.d.k.Akad.d. Wiss.z. Wien 53, 193, 1887
- 105) Rollett, A., Anatomische und physiologische Bemerkungen über die Muskeln der Fledermäuse. Sitzgber.d.k.Akad.d. Wiss. math. -nat. Cl., Abt.III, 98, 169, 1889
- 106) Romeis, B., Mikroskopische Technik. Leipzig 1948
- 107) Rosza, G., A.Szent-Györgyi and R. Wyckoff, The fine structure of myofibrils. Exper.Cell..Res. 1, 194, 1950 (zit.n.Häggquist 1956)
- 108) Rouget, M. C., Les dernières manifestations de la vie des muscles. Comptes Rendus des séances de l'académie des sciences 104, 1017, 1887
- 109) Rubenthaler, G., Méthode générale de fixation ayant pour but de restreindre les artefacts. Z.wiss.Mikr. 24, 133, 1907
- 110) Ruska, H., Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Histologie des Skelettmuskels kleiner Säugetiere. Z.Naturforsch. 9b, 358, 1954
- 111) Sarkissow, S. A., Zur Frage nach dem Einfluß der Fixierung auf das Zellbild der Großhirnrinde. J.Psych.u.Neurol. 41, 265, 1930
- 112) Sarkissow, S. A., Über die Schrumpfung des Gehirns bei Paraffineinbettung. J.Psych.u.Neurol. 41, 76, 1930
- 113) Schaeede, R., Vergleichende Untersuchungen über Cytoplasma, Kern und Kernteilung im lebenden und fixierten Zustand. Protoplasma 3, 145, 1928
- 114) Schaefer, H., Elektrobiologie des Stoffwechsels. Im Handb.d.allgem. Path. IV/II, 743, 1957
- 115) Schaffer, J., Beiträge zur Histologie und Histogenese der quergestreiften Muskelfasern des Menschen und einiger Wirbelthiere. Sitzgber.d.math. -nat. Cl.d.Akad.d. Wiss. Abt.3, 102, 7, 1893
- 116) Schaffer, J., Veränderungen an Gewebeelementen durch einseitige Wirkung der Fixierungsflüssigkeit und Allgemeines über Fixierung. Anat.Anz. 51, 353, 1918
- 117) Schiefferdecker, P., Sitzgber.d.niederrhein.Ges,Nat.heilk. 1903, S.1 und 12 (zit.n.Häggquist 1931)
- 118) Schiefferdecker, P., Muskeln und Muskelkerne. Leipzig 1909

- 119) Schiller, W., Gewebsexfixierung unter Erhaltung der basischen Kernfärbung. Z. Zellforsch. 11, 63, 1930
- 120) Schimert, J., Über den feineren Bau einiger Muskeln des Menschen. Z. mikr.-anat.Forsch. 36, 215, 1934
- 121) Schroeder, K., Die bei der Formalin-Fixierung des Nervensystems auftretenden Artefakte und deren Verhütung. Z. Neur. 147, 153, 1933
- 122) Schwalbe, G. und R. Mayeda, Über die Kaliberverhältnisse der quergestreiften Muskelfasern des Menschen. Z. Biol. 27, N.F. 9, 489, 1890
- 123) Schwann, T., Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur des Wachstums der Tiere und Pflanzen. Berlin 1839 (zit. n. Häggquist 1931)
- 124) Schwarzfischer, F., Chemische Vorgänge bei der Lösung der Totenstarre. Dtsch. Z. Gerichtl. Med. 39, 421, 1948/49
- 125) Seki, M., Untersuchungen mit nicht wäßrigen Flüssigkeiten. I. Fixierung von Geweben in nicht wäßrigen Flüssigkeiten. Z. Zellforsch. 26, 305, 1937
- 126) Seki, M., II. Schrumpfung von fixierten Geweben während der Überführung vom Wasser bis ins Paraffin. Z. Zellforsch. 26, 321, 1937
- 127) Seki, M., III. Erfahrungen auf dem Gebiet der Zelloidineinbettung. Z. Zellforsch. 26, 338, 1937
- 128) Seki, M., V. Feingewebliche Veränderungen, die bei der Fixierung und Einbettung durch verschiedene nicht wäßrige Flüssigkeiten verursacht werden. Z. Zellforsch. 27, 282, 1937/38
- 129) Sjöbring, U., Über das Formol als Fixierungsflüssigkeit. Anat. Anz. 17, 273, 1900
- 130) Stöhr, Ph., Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie. Jena 1940
- 131) Stöhr, Ph. jr., Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951
- 132) Stoeltzner, H., Der Einfluß der Fixierung auf das Volumen der Organe. Z. wiss. Mikr. 23, 14, 1906

- 133) Strangeways, T. S. P. and R. G. Canti, The living cell in vitro as shown by dark-ground illumination and the changes induced in such cells by fixing reagents. *Quart. J. Micr. Science* 71/I, 1, 1927
- 134) Tarkhan, A. A., The effects of fixatives and other reagents on cell-size and tissue-bulk. *J.R. Microsc. Soc.* 51, 387, 1931
- 135) Tellyesniczky, K., Über die Fixierungs- (Härtungs-) flüssigkeiten. *Arch.mikr. Anat.* 53, 202, 1898
- 136) Tellyesniczky, K., Fixation im Lichte neuerer Forschungen. *Ergeb. Anat.u. Entw.gesch.* 11, 3, 1902
- 137) Tellyesniczky, K., Fixation. In *Enzykl.mikr. Technik* 1926
- 138) Thiel, H., Histologische Untersuchungen an Skelettmuskeln von Urodelen. *Z. Zellforsch.* 30, 67, 1939
- 139) Thulin, I., Über Kunstprodukte in mikroskopischen Präparaten quergestreifter Muskelfasern. *Anat.Anz.* 46, 23, 1914
- 140) Vogt (zit.n.Lagerlöf und Torgersruud)
- 141) Voss, H., Vergleichende Untersuchungen über den Aufteilungsgrad der kontraktilen Masse in den Skelettmuskeln. I. Der Nachweis eines verschiedenen Aufteilungsgrades in den 3 Teilen des Trapezmuskels. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 36, 179, 1934
- 142) Voss, H., II. Der Nachweis eines verschiedenen Aufteilungsgrades in Muskeln der Kröte und des Frosches. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 38, 341, 1935
- 143) Voss, H., III. Muskeln der oberen und der unteren Extremität des Menschen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 38, 345, 1935
- 144) Voss, H., Grundriß der normalen Histologie und der mikroskopischen Anatomie. Leipzig 1955
- 145) Voss, H., Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Augenmuskeln des Menschen. *Anat. Anz.* 104, 345, 1957
- 146) Watzka, M., "Weiße" und "rote" Muskeln. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 45, 668, 1939
- 147) Weber, E., Grundriß der biologischen Statistik. Jena 1948
- 148) Weinstein, H.J., An electron microscope study of cardiac muscle. *Exper. Cell. Res.* 7, 130, 1954 (zit.n.Häggquist 1956)

- 149) Werner, Cl.F., Über Volumenveränderungen der Cupula terminalis im Ohrlabyrinth, insbesondere durch Fixation, Entkalkung und Einbettung. Z. Zellforsch. 16, 471, 1932.
- 150) Werner, Cl.F., Über den Einfluß von Temperatur und Druck auf das Ergebnis der histologischen Fixation. Z. Zellforsch. 20, 747, 1933/34
- 151) Werner, Cl.F., Über den Einfluß der Konzentration und des osmotischen "Druckes" der Fixationslösung und die Forderung der Isotonie. Z. Zellforsch. 25, 341, 1936/37
- 152) Werner, Cl.F., Die histologische Fixation als zell- und gewebsphysiologisches Experiment. Wiss. Zeitschr. d. Univ. Leipzig, math. -nat. Reihe H. 5, 247, 1952/53
- 153) Wilkes, W., Strukturveränderungen an quergestreiften Muskelfasern durch physikochemische Einwirkungen. Z. mikr. -anat. Forsch. 62, 51, 1956
- 154) Wohlfart, G., Untersuchungen über die Gruppierung von Muskelfasern verschiedener Größe und Struktur innerhalb der primären Muskelfaserbündel in der Skelettmuskulatur, sowie Beobachtungen über die Innervation dieser Bündel. Z. mikr. -anat. Forsch. 37, 621, 1935
- 155) Wohlfart, G., Über das Vorkommen verschiedener Arten von Muskelfasern in der Skelettmuskulatur des Menschen und einiger Säugetiere. Acta psychiatr. et neurol. Københ. 12, 1, 1937 (zit. n. Krüger 1952)
- 156) Wohlfart, G., Eine neue Methode für quantitativ-histologische Studien an Skelettmuskeln. Z. mikr. -anat. Forsch. 51, 471, 1942
- 157) Zeiger, K., Der Einfluß von Fixationsmitteln auf die Färbbarkeit histologischer Elemente. Z. Zellforsch. 10, 481, 1930
- 158) Zeiger, K., Zur Frage nach der Wirkungsweise des Formaldehyds bei der histologischen Fixation. Z. wiss. Mikr. 47, 273, 1930
- 159) Zeiger, K., Die Methoden der histologischen Technik vom Standpunkt der Kolloidlehre. In Mediz. Kolloidlehre, Dresden-Leipzig 1935
- 160) Zeiger, K., Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik. Dresden-Leipzig 1938
- 161) Zirkle, C., Aldehydes as cytological fixatives. Protoplasma 20, 169, 1934

A N H A N G

Fixations- zeitpunkt	1 Stunde				6 Stunden			
	Susa		Formol		Susa		Formol	
	Paraffin	Celloidin	Paraffin	Celloidin	Paraffin	Celloidin	Paraffin	Celloidin
Einbettung								
Serie	A	B	C	D	E	F	G	H
Mittelwerte (mm ²)	486 ± 14	496 ± 16	418 ± 10	301 ± 5	270 ± 11	338 ± 9	169 ± 6	142 ± 4
Mediane (mm ²)	485	480	415	300	270	320	170	140
Absolute werte (Quadratmikron)	3040 + 87	3100 + 100	2620 + 63	1880 + 31	1690 + 69	2110 + 56	1060 + 37	890 + 25
Variabilitäts- koeffizient	28, 8	32, 2	23, 9	16, 6	40, 7	26, 5	35, 5	28, 3

Tab. I (s S 26): Übersicht über das Verhalten der mittleren Muskelfaserquerschnittsgröße in den verschieden behandelten Serien.

	B	C	D	E	F	G	H
A	0,48	3,95	12,4	12,1	8,9	20,8	23,5
B		4,14	11,3	11,6	8,6	13,3	21,5
C			10,5	10,0	5,9	21,4	25,7
D				2,56	3,6	16,9	24,8
E					4,8	8,1	10,9
F						15,6	19,9
G							3,75

Tab. II (s. S. 26): Prüfung auf signifikante Differenz

Präparate		Faserquerschnitte						Streuung				K/k
		1 Std.		6 Std.		Differenz	K	1 Std.	6 Std.	Differenz	k	
Susa	Paraffin	100	56	- 44	0,56	100	142	+ 42	1,42	0,4		
	Celloidin	100	68	- 32	0,68	122	100	- 22	0,82	0,83		
Formol	Paraffin	100	41	- 59	0,41	100	149	+ 49	1,49	0,27		
	Celloidin	100	47	- 53	0,47	100	170	+ 70	1,70	0,28		

Tab. III (s. S. 27): Gegenüberstellung der nach einer und der nach sechs Stunden fixierten Serien.

Präparate		Faserquerschnitte				Streuung				K/k
		Susa	Formol	Differenz	K	Susa	Formol	Differenz	k	
1 Std.	Paraffin	100	85	- 15	0,85	120	100	- 20	0,84	1,01
	Celloidin	100	61	- 39	0,61	194	100	- 94	0,52	1,17
6 Std.	Paraffin	100	63	- 37	0,63	115	100	- 15	0,87	0,72
	Celloidin	100	42	- 58	0,42	100	107	+ 7	1,07	0,39

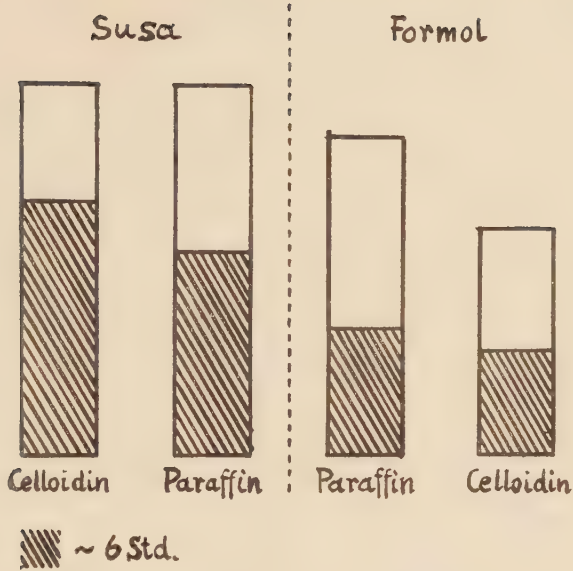
Tab. IV (s. S. 28): Das Verhalten der formolfixierten gegenüber den susafixierten Muskelfasern.

Präparate		Faserquerschnitte				Streuung				K/k
		Paraffin	Celloidin	Differenz	K	Paraffin	Celloidin	Differenz	k	
1 Std.	Susa	98	100	+ 2	1,00	100	112	+ 12	1,12	0,89
	Formol	100	72	- 28	0,72	144	100	- 44	0,69	1,04
6 Std.	Susa	80	100	+ 20	1,25	154	100	- 54	0,65	1,92
	Formol	100	84	- 16	0,84	126	100	- 26	0,79	1,06

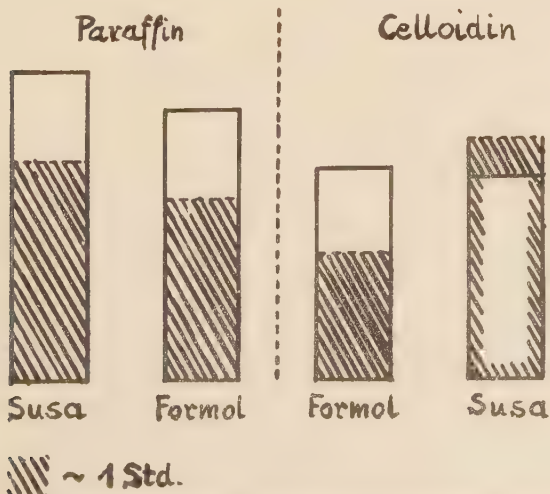
Tab. V (s. S. 29): Gegenüberstellung der in Paraffin und der in Celloidin eingebetteten Muskelfasern.

1)	1-Std. -Susa-Celloidin	100 ‰
2)	1-Std. -Susa-Paraffin	98 ‰
3)	1-Std. -Formol-Paraffin	86 ‰
4)	6-Std. -Susa-Celloidin	69 ‰
5)	1-Std. -Formol-Celloidin	62 ‰
6)	6-Std. -Susa-Paraffin	55 ‰
7)	6-Std. -Formol-Paraffin	35 ‰
8)	6-Std. -Formol-Celloidin	29 ‰

Tab. VI (s. S. 31): Das Verhalten der mittleren Faserquerschnittsgröße in Abhängigkeit von der Behandlung
(s. auch graphische Darstellung Tab. VII)



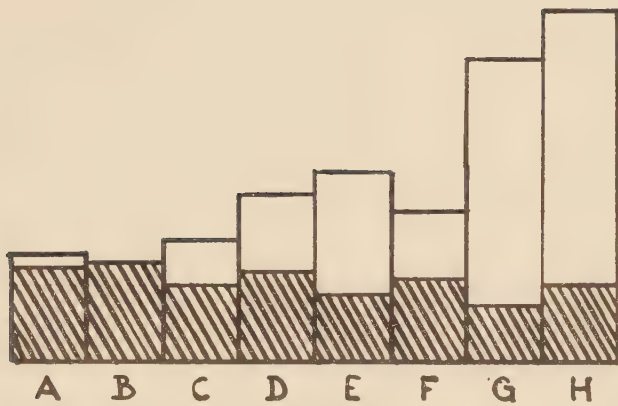
Tab. VII (s. S. 31): Das Verhalten der mittleren Faserquerschnittsgröße in den verschiedenen Serien. (1- und 6-Std.-Werte ineinander gezeichnet)



Tab. VIII (s. S. 32): Das Verhalten der Streubreite in den verschiedenen Serien. (1- und 6-Std.-Werte ineinander gezeichnet)

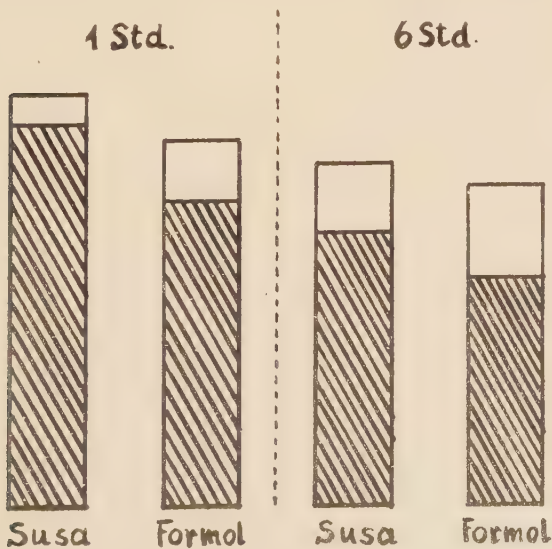
Serie	Faserquerschnitt (%)	f	Fibrillendichte		
			gemessene	"theoretische"	%
A	98	1,02	24,9 + 0,8	28	90
B	100	1,00	26,9 + 0,8	27	100
C	86	1,19	20,2 + 0,5	32	63
D	62	1,64	24,0 + 0,6	44	55
E	55	1,85	17,9 + 0,6	50	36
F	69	1,47	22,5 + 0,6	40	58
G	35	2,95	15,2 + 0,4	80	19
H	29	3,45	21,2 + 0,8	93	23

Tab. IX (s. S. 37): Das Verhalten der mittleren Fibrillendichte in den einzelnen Serien
(s. auch graphische Darstellungen Tab. X und XI)



/// ~ Messwert

Tab. X (s. S. 37): Das Verhältnis der wirklichen (gemessenen) zur theoretischen Fibrillendichte in den einzelnen Serien. (Meßwerte und theoretische Werte ineinander gezeichnet)



/// ~ Paraffin

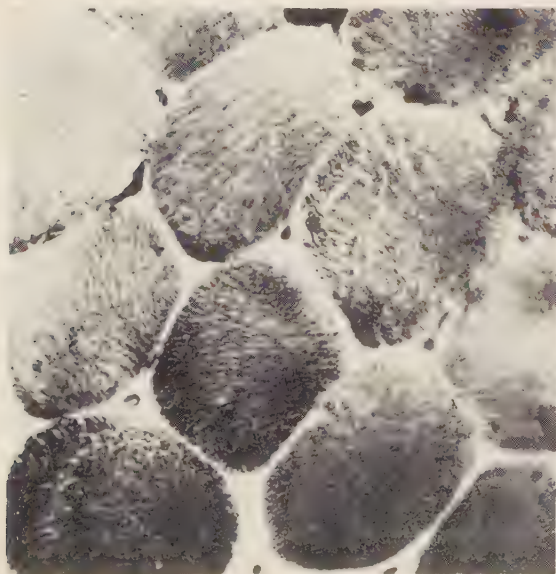
Tab. XI (s. S. 37): Das Verhalten der Fibrillendichte in den verschiedenen Serien (Paraffin- und Celloidinwerte ineinander gezeichnet)

MIKROPHOTOGRAMME

(Technik s. S. 25, Abbildungsmaßstab für sämtliche Aufnahmen 432 : 1)

Abb. 1: Serie A (1-Std. -Susa-Paraffin). Man erkennt überall die ziemlich regelmäßige Verteilung der feinen Fibrillen über die Muskelfaserquerschnitte. Außer in der stärker geschädigten mittleren Faser finden sich nur geringgradige Risse und kaum Cohnheimsche Felder.

Abb. 2: Serie B (1-Std. -Susa-Celloidin). Die Fasergröße und -form ist kaum verändert. Cohnheimsche Felder und Risse fehlen fast vollständig. Die Fibrillen scheinen etwas feiner zu sein, sie sind dichter und regelmäßiger angeordnet als in Serie A.



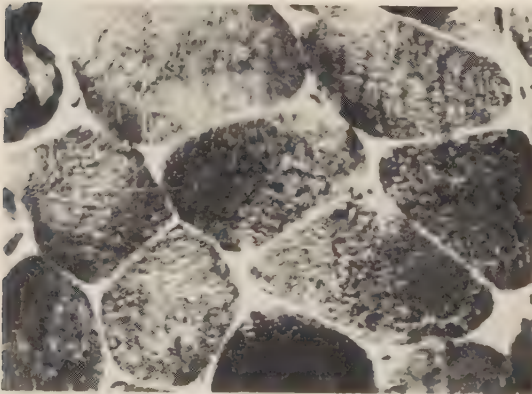
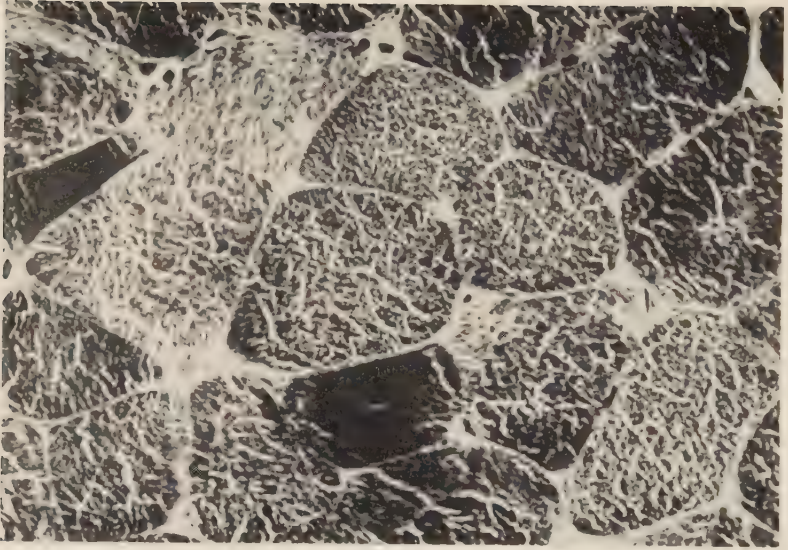
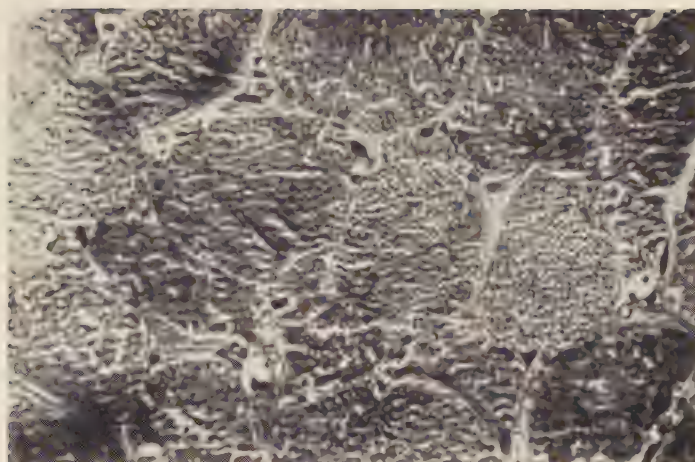


Abb. 3: Serie C (1-Std. -Formol-Paraffin). Auffallend sind die geringere Querschnittsgröße und die stärkeren Abplattungen sowie die zahlreichen bizarren Risse und Cohnheimschen Felder, die gröberen unregelmäßig angeordneten Fibrillen, die durch Sarkoplasmastraßen teils zu polygonalen Arealen zusammengedrängt sind. In den Fasern rechts und links oben sind die Fibrillen schräg geschnitten.

Abb. 4: Serie D (1-Std. -Formol-Celloidin). Die Querschnittsgröße ist hier noch geringer. Man erkennt gegenüber Serie C das völlige Fehlen von Rissen und Cohnheimschen Feldern sowie die regelmäßigere und dichtere Anordnung der durchweg feiner ausgebildeten Fibrillen.

Abb. 5: Serie E (6-Std. -Susa-Paraffin). Gegenüber Serie A sind die Fasern deutlich dünner und wesentlich dichter gepackt, so daß polygonale Verformungen häufiger sind. Das uniforme Bild der regelmäßig verteilten, feinen Fibrillen wird nur in wenigen Fasern geringfügig durch kleinere Risse gestört und praktisch überhaupt nicht durch Cohnheimsche Felder beeinträchtigt. Da gleichzeitig die Fibrillen auch einheitlicher ausgeprägt sind, ergibt sich ein deutlich regelmäßigeres und reineres Bild als in Serie A.

Abb. 6: Serie F (6-Std. -Susa-Celloidin). Risse und Cohnheimsche Felder fehlen fast vollständig. Die Fibrillen sind zart ausgebildet, regelmäßig über den Querschnitt verteilt und noch dichter als in Serie E gepackt.



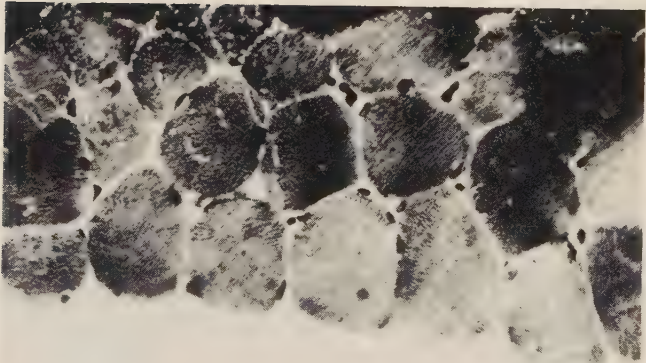
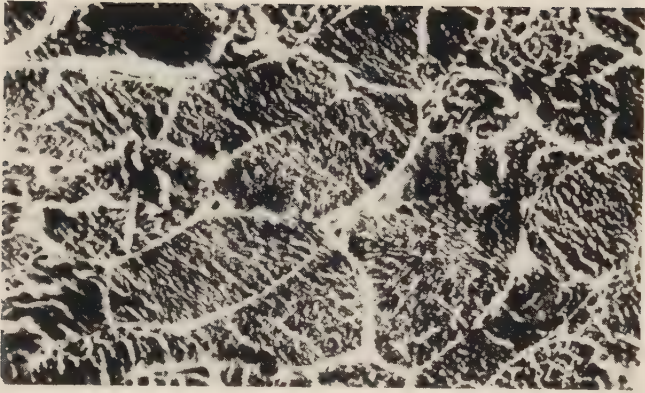


Abb. 7: Serie G (6-Std. -Formol-Paraffin). Gegenüber Serie C haben die Fasern beträchtlich kleinere Querschnitte, die auch deutlich stärker deformiert sind. Infolge ihrer unscharfen Begrenzung, der zahlreichen Risse und der insgesamt unregelmäßigen Verteilung der gröberen Fibrillen kommt es zu einem wirren, unruhigen Bild.

Abb. 8: Serie H (6-Std. -Formol-Celloidin). Die Faserquerschnitte weisen in dieser Serie ihr Minimum auf. Die Fibrillenordnung ist aber deutlich regelmäßiger als in Serie G und kaum durch Spalten beeinträchtigt. Die Einzelfibrillen zeigen nur geringe Abweichungen voneinander und sind wesentlich feiner ausgebildet als in Serie G.

LEBENS LAUF

Am 13. April 1934 wurde ich als Sohn des Regierungsobersekretärs Alfred Klaus und seiner Ehefrau Anna, geb. Forler in Ludwigshafen/Rhein geboren.

Nach 4 Jahren Grundschule, zuerst in Mannheim, dann in Zweibrücken/Pfalz, besuchte ich vom Herbst 1944 an das Naturwissenschaftliche Gymnasium in Zweibrücken und legte dort im Frühjahr 1953 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1953 immatrikulierte ich mich in der medizinischen Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz und bestand hier am 4. November 1955 das Physikum. Die folgenden 6 klinischen Semester studierte ich ebenfalls in Mainz.

